

Министерство просвещения РФ

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ярославский государственный педагогический университет
им. К.Д. Ушинского», Ярославль, Россия

Учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

**Роль газотрансмиттеров в механизмах
транспорта кислорода кровью в различных
условиях кислородного обеспечения**

Монография

Ярославль – Гродно
2022

УДК 612.1; 579.61
ББК 28.70
Р68

Печатается по решению редакционно-издательского совета УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Подготовка материалов монографии осуществлялась в рамках международного научного проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Российского фонда фундаментальных исследований «БРФФИ–РФФИ-2020» № М20Р-428 – БРФФИ и № 20-515-00019- РФФИ (Главы 1-6) и в рамках научного проекта РФФИ, № 20-015-00143А (Глава 7).

Рецензенты:

профессор кафедры биохимии Гродненского государственного университета им. Янки Купалы доктор биологических наук И.Б. Заводник;
заведующий кафедрой медицинской физики с курсом медицинской информатики Ярославского государственного медицинского университета профессор, доктор биологических наук М.М. Фатеев

Авторы: Акулич Н.В., Билецкая Е.С., Засимович В.Н., Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н., Ковальчук-Болбатун Т.В., Михайлов П.В., Муравьев А.В., Смотрин С.М., Тихомирова И.А. **Роль газотрансмиттеров в механизмах транспорта кислорода кровью в различных условиях кислородного обеспечения** [Текст] : монография / под редакцией А.В. Муравьева, В.В. Зинчука, – Ярославль ; Гродно : Канцлер, 2022. – 208 с.

В коллективной монографии рассматривается проблема транспорта эритроцитами кислорода при разных условиях его метаболизма в норме и при различных формах патологии. Оригинальным является то, что транспорт дыхательных газов рассматривается параллельно с анализом роли газовых медиаторов (O_3) или газотрансмиттеров, таких как оксид азота (NO), монооксид углерода (CO) и сульфид водорода (H_2S) в этих процессах. Хотя озон и не является классическим газотрансмиттером, однако, он модулирует сигнальную активность других биологических регуляторов и рассматривается как важный участник клеточных регуляторных каскадов. В содержании ряда глав монографии проблеме взаимодействия газотрансмиттеров и озона в регуляции кислородтранспортной функции крови уделено существенное внимание. Монография адресована специалистам в области физиологии и патофизиологии кровообращения и микроциркуляции, докторантам, аспирантам и магистрантам медицинского и биологического профиля подготовки.

УДК 612.1; 579.61
ББК 28.70

ISBN 978-5-907590-08-3

© А.В. Муравьев, В.В. Зинчук, 2022

Оглавление

Предисловие	4
Глава 1. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H ₂ S) в регуляции микрореологии клеток крови и ее транспортного потенциала (Муравьев А.В., Зинчук В.В.)	5
Глава 2. Влияние озона на механизмы транспорта кислорода при гипо/гипероксических условиях (В.В. Зинчук, Е.С. Билецкая)	42
Глава 3. Эритроцитарная L-аргинин-NO-система при различных значениях парциального давления кислорода (Н.В. Акулич, В.В. Зинчук)	65
Глава 4. Коррекция кислородзависимых процессов при термическом ожоге кожи у беременных крыс методом низкоинтенсивного лазерного облучения крови (Т.В. Ковальчук-Болбатун, В.В. Зинчук, С.М. Смотрин)	87
Глава 5. Реперфузионно-реоксигенационный синдром при ретроградной эверсионно-петлевой эндартерэктомии при хронической атеросклеротической окклюзии (В.Н. Засимович, В.В. Зинчук, Н.Н. Иоскевич)	102
Глава 6. Возрастные изменения максимального потребления кислорода, гемореологии и микроциркуляции у лиц с разным уровнем двигательной активности (П.В. Михайлов)	131
Глава 7. Роль сероводорода в сердечно-сосудистой системе (И.А. Тихомирова)	168
Сведения об авторах	207

ПРЕДИСЛОВИЕ

Зинчук В.В., Муравьев А.В.

Данная монография создана в рамках выполнения международного научного проекта, финансируемого Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований и Российским фондом фундаментальных исследований (№ М20Р-428–БРФФИ и № 20-515-00019- РФФИ). Авторами монографии являются сотрудники учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского» и других организаций Беларуси и России.

Проведенные исследования демонстрируют значение газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода для формирования механизмов транспорта кислорода кровью в различных режимах кислородного обеспечения. Показано значение газотрансмиттеробразующей функции в адекватном обеспечении кровотоком тканевых потребностей в кислороде при гипоксии и таких состояниях, как термическом ожоге и реперфузионно-реоксигенационного синдрома при хронической атеросклеротической окклюзии сосудов нижних конечностей. В монографии представлены данные о возможности коррекции реологических и кислородсвязывающих свойств крови, основанные на изменении функционирования системы газотрансмиттеров. Полученные данные могут быть использованы в медицине в качестве фактора коррекции патологий, связанных с нарушением продукции газотрансмиттеров (монооксид азота, сероводород), возникающих при гипоксических состояниях организма. Результаты исследования могут быть использованы в качестве основы для разработки новых способов повышения адаптационных резервов организма при участии газотрансмиттеров в условиях гипоксии, а также в практической медицине в качестве фактора коррекции патологий, связанных с нарушением продукции

газотрансмиттеров (монооксид азота, сероводород), возникающих при гипоксических состояниях организма.

Глава 1. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H₂S) в регуляции микрореологии клеток крови и ее транспортного потенциала

Муравьев А.В., Зинчук В.В.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинский», Ярославль, Россия, e.mail: alexei.47@mail.ru

Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Республика Беларусь

Введение

В передаче регуляторных сигналов к эффекторным клеткам наряду с синаптической формой используется и другой способ межклеточной и внутриклеточной коммуникации – передача информации с помощью газовых медиаторов или газотрансмиттеров (ГТ). К ним относятся оксид азота (NO), монооксид углерода (CO) и сульфид водорода (H₂S) [1, 2, 3]. Все три указанных газа соответствуют всем критериям, определяющим их как газовые медиаторы или трансмиттера (ГТ). Термин газотрансмиттер относится к газообразной молекуле, которая синтезируется и высвобождается в биологической системе и обладает функцией преобразования сигнала. Ниже приведены критерии идентификации для газотрансмиттера. Соединение должно быть [4]:

1. Газом;
2. Быть эндогенно и ферментативно вырабатываемым регулируемым образом;
3. Вызывать, при экзогенном применении, четко определенные физиологические эффекты в соответствующих концентрациях, которые имитируют действие эндогенно продуцируемого ГТ на клетки тканей;
4. Действовать на определенные клеточные мишени;
5. Использовать особый механизм инактивации.

В течение многих десятилетий оксид азота, монооксид углерода и сульфид водорода описывались как токсичные газы, оказывающие повреждающие действие на организм человека. Вместе с тем, относительно недавно было найдено, что указанные выше соединения эндогенно синтезируются многими клетками организма и являются сигнальными молекулами, выполняющими как аутокринную, так и паракринную регуляцию во многих тканях и органах тела человека и животных [5]. Изучение механизмов регуляторных влияний газовых медиаторов представляет собой интересную и важную задачу современной биологии, причем не, только животных, но и растений. Все три известных газотрансмиттера участвуют в регуляции сердечно-сосудистой системы: сердца и сосудов [1-3]. Известно, что артериальное давление и перфузия тканей в значительной мере регулируются артериолами, сосудами, расположенными непосредственно перед нутритивными капиллярами. Этот тип микрососудов формирует обширную сеть и называется «резистивными сосудами». Для поддержания перфузии адекватной, запросу тканей, эти сосуды реагируют на эндокринные, паракринные и аутокринные сигналы. В системе кровообращения клетки-соседи получают паракринные регуляторные воздействия и, в том числе этими сигнальными молекулами являются газотрансмиттеры. Все три ГТ способствуют релаксации гладкомышечных клеток сосудов, что сопровождается расширением мелких артерий и артериол и обеспечивается эффективная перфузия [2]. Внутриклеточный молекулярный каскад газотрансмиттеров включает образование циклических нуклеотидов (цАМФ/цГМФ) и синтез и активацию внутриклеточные протеинкиназы (РКА/PKG). Другой сигнальный путь этих газотрансмиттеров может включать регуляцию калиевых каналов (АТФ - и кальцийзависимых калиевых каналов), что также вызывает вазодилатацию. Так, например, было показано, что вазорелаксация в ответ на действие H_2S возникает в результате активации АТФ-зависимых калиевых каналов (K^+_{ATP}), а также потенциалзависимых калиевых каналов [6]. Что касается монооксида углерода, то его сосудорасширяющий эффект может быть связан с активацией

кальцийзависимых калиевых каналов (КСа-каналы) [7]. Эти каналы открываются при активации таких соединений как РКГ или РКА, с помощью оксида азота. Это может быть свидетельством функционального кросс-общения аденилатциклазного и гуанилатциклазного регуляторного механизма в клетках сердечно-сосудистой системы и клеточных компонентов крови. Таким образом, можно полагать, что все три газотрансмиттера участвуют в регуляции кровообращения, включая сосудистый компонент, а также и текущую по сосудам кровь, управляя ее текучестью и транспортным потенциалом, через регуляторное воздействие на микрореологию ее клеток и особенно эритроцитов.

I. Оксид азота, как газотрансмиттер

1.1. *Роль оксид азота в регуляции кровообращения и микрореологии клеток крови*

Среди трех упомянутых выше газовых медиаторов первым был описан оксид азота. Это соединение служит ключевым вторичным мессенджером в животном мире позвоночных и играет важную роль в межклеточной и внутриклеточной трансдукции регуляторных сигналов [8]. В кровеносной системе NO образуется из L-аргинина с помощью фермента – эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS). Это одна из трех NO-синтаз человека, кодируемая геном NOS3 на 7-й хромосоме. Этот фермент обеспечивает синтез большей части NO и является кальций - зависимым ферментом. Выделяют три основные изоформы NO-синтаз: нейрональную, макрофагальную и эндотелиальную. Главным источником синтеза NO в организме служит аминокислота L-аргинин [1, 8]. Оксид азота по своим физико-химическим свойствам является токсическим газом. Вместе с тем, в большинстве клеток тела он синтезируется в небольших (микромоллярных) концентрациях и может находиться в трех переходящих друг в друга формах: в виде нитрозония (NO^+), нитроксил-аниона (NO^-) и свободного радикала NO^* , имеющего неспаренный электрон ($\text{N}^*=\text{O}$). Все формы этого соединения оказывают воздействие на внутриклеточные молекулярные мишени. Однако NO^* в виде

свободного радикала из-за наличия неспаренного «лишнего» электрона обладает наиболее высокой химической активностью (существенно большей, чем у O_2) [9]. Эта молекула является одним из наиболее важных элементов внутриклеточных сигнальных каскадов в сосудистой системе. [10]. Оксид азота был впервые описан как биоактивная молекула, благодаря его способности стимулировать растворимую гуанилатциклазу (p-ГЦ) [11]. Исследования, проведенные за последние 30 лет, показали значительное разнообразие передачи сигналов с помощью NO в сосудистой системе, которое включает, кроме активации p-ГЦ также и S-нитрозирования белков [12]. Итак, оксид азота представляет собой газ, который непрерывно синтезируется в эндотелиальных клетках и выполняет несколько функций, которые поддерживают сосудистый гомеостаз. Как было сказано выше, в системе кровообращения NO синтезируется с помощью изоформы NO-синтазы III типа. Когда NO высвобождается из эндотелия, он может диффундировать аблюминально в гладкомышечные клетки, вызывая вазодилатацию. Тогда как, если это выделение происходит люминально, в кровотоке, то NO реагирует с оксигемоглобином внутри эритроцитов с образованием нитратов, а часть оставшегося NO окисляется до нитрита. Было показано, что нитрит в эритроцитах может быть основным внутрисосудистым хранилищем и транспортером NO молекул у человека. Следовательно, имеется возможность трансдуцировать эту сигнальную молекулу дистальнее места его образования [14]. Важно заметить, что в сосудистой системе только просвет сосуда (сосудистый тонус) может быть объектом регуляторных воздействий сигнальных молекул [15]. Тогда как гемореологический компонент располагает более широким спектром регуляторных ответов:

1) изменение вязкости плазмы и гематокрита создает на сосудистом эндотелии величину напряжения сдвига, необходимую для активации e-NO-синтазы (eNOS), для последующего образования оксида азота эндотелиальными клетками NO;

2) В капиллярах, лишенных мышечных элементов, оптимизация тканевой перфузии, и следовательно, доставки кислорода клеткам, возможна при положительных изменениях деформируемости эритроцитов;

3) В условиях гипоксии или механического напряжения на мембране эритроцитов происходит выделение АТФ в плазму крови, с последующей деградацией этой молекулы до АДФ и АМФ. Данные соединения активируют пуриnergические рецепторы (типа P_2Y_{13}) эндотелиальных клеток сосудов, стимулируют образование NO, и последующей релаксации гладкомышечных клеток, ведущей к вазодилатации [16];

4) Эритроциты, при оптимальной деформируемости, могут более эффективно транспортировать NO, а наличие собственной NO-синтазы в активной форме, обеспечивает эндогенный синтез этого газового медиатора.

В работе Ulker P et al. [17] подтверждается гипотеза о том, что NOS в эритроцитах активна и экспорт NO из RBC усиливается механическим напряжением сдвига на мембране клетки. При инкубации эритроцитов с донором оксида азота, с нитропруссидом (НПН) было выявлено умеренное увеличение (на 8-10%, $p < 0,05$) их деформируемости и выраженное снижение агрегации, при этом был обнаружен дозозависимый эффект (рис. 1). Следовательно, полученные результаты исследования подтверждают то, что инкубация эритроцитов с донором оксида азота или со стимулятором eNOS (L-аргинин) приводит к положительным микрореологическим ответам эритроцитов [18, 19]. Что касается клеточной молекулярной мишени для NO в эритроцитах, то было установлено, что после ингибирования р-ГЦ с помощью 1H-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ, 0,5 мкМ), микрореологические эффекты НПН практически полностью устранялись (рис. 2).

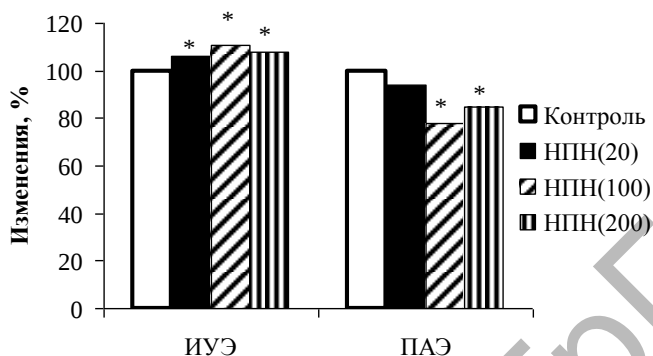


Рис. 1. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с нитропруссидом натрия (НПН).

Примечания: ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов как показатель деформируемости; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; концентрации НПН (мкМ) указаны в скобках.

* Отличие от контроля статистически достоверно ($p < 0,05$)

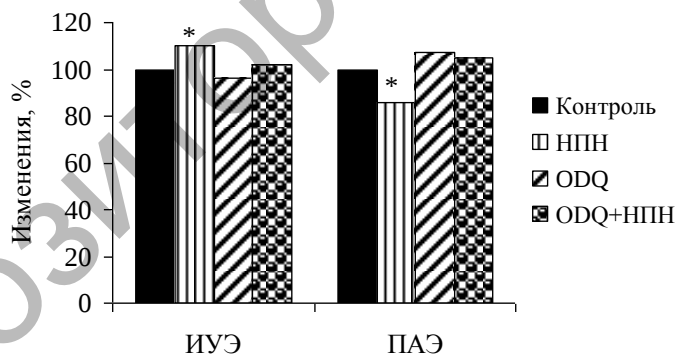


Рис. 2. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с нитропруссидом натрия (НПН), ODQ и их сочетанным воздействием (НПН+ ODQ).

Примечание: * Отличие от контроля статистически достоверно ($p < 0,05$)

Известно, что ODO ингибирует гем-содержащие ферменты: NO-синтазу и цитохромы P-450, катализирующие образование NO из НПН [20]. Для более убедительной проверки гипотезы об активном участии растворимой гуанилатциклазы в трансдукции NO сигналов, связанных с микрореологическими ответами на донор этого газотрансмиттера, ингибировали активность eNOS с помощью метиленового синего (МС, 50 мкМ).

Был установлен прирост ИУЭ на 13% ($p<0,05$) под влиянием НПН, который полностью устранялся прединкубацией клеток с МС. Снижение агрегации под влиянием НПН на 22% ($p<0,05$) значительно уменьшалось после предварительной инкубации эритроцитов с МС (рис. 3). При этом различия ПАЭ с контролем, на 4%, оказались не достоверными.

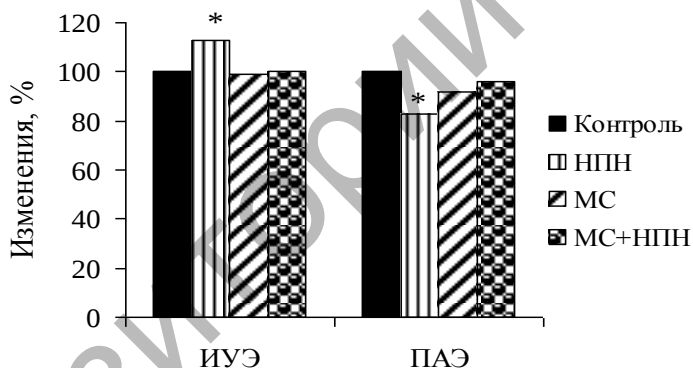


Рис. 3. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с нитропруссидом натрия (НПН), метиленовым синим (МС) и их сочетанным воздействием (МС+НПН).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно ($p<0,05$)

Известно, что в эритроцитах человека содержится биологически активная eNOS [18] и ее можно активировать L-

аргинином [17]. Действительно при инкубации эритроцитов с L-аргинином (100 мкМ) наблюдали прирост ИУЭ на 8% ($p<0,01$) и снижение агрегации на 21% ($p<0,05$). Ингибитор eNOS, L-NAME (200 мкМ) полностью устранял этот микрореологический эффект (рис. 4). Важно заметить, что разница в микрореологических характеристиках эритроцитов, после инкубации с субстратом eNOS, L-аргинином и его сочетанным воздействием с ингибитором данного фермента, L-NAME, была статистически достоверной (рис. 4).

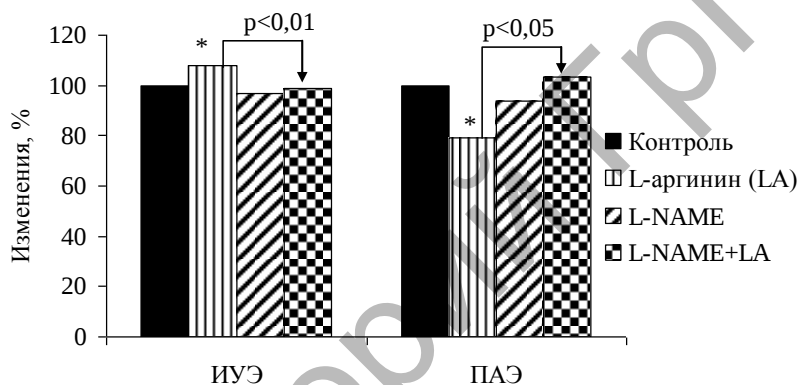


Рис. 4. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с L-аргинином (LA), L-NAME и их сочетанным воздействием (L-NAME+LA).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно ($p<0,01$)

Следовательно, в системе кровообращения NO, наряду с участием в регуляции давления крови и сосудистого тонуса, повышает деформируемость эритроцитов и существенно уменьшает агрегацию эритроцитов, тромбоцитов и адгезии лейкоцитов [18-21]. С другой стороны, сниженная биодоступность NO считается одним из основных факторов сердечно-сосудистых заболеваний. Доноры NO и вещества, стимулирующие внутриклеточную eNOS, широко используются в клинической практике и служат основой для разработки новых

поколений лекарственных препаратов на основе метаболизма NO [22]. Таким образом, можно заключить, что оксид азота регулирует тканевую перфузию и доставку кислорода в клеточный микрорайон, используя *сосудистый* (дилатация артериол) и *микрореологический механизмы* (повышение деформируемости эритроцитов и снижение их агрегации). При этом важно заметить, что сосуды в ответ на NO имеют только один вариант изменений – *вазодилатацию*. Тогда как в крови этот ГТ создает более сложную композицию регуляторных ответов, которые включают повышение деформируемости эритроцитов, выраженное снижение их агрегации. В свою очередь это ведет к приросту скоростей сдвига и увеличению напряжения сдвига на эндотелии сосудов [22]. Механическое стимулирование эндотелия является важным стимулом eNOS для повышения синтеза NO. Последний диффундирует в направлении слоя гладкомышечных клеток артериолы, что приводит к их релаксации и дилатации сосуда (рис. 5).



Рис. 5. Схема распределения влияний оксида азота на сосуды и реологию крови.

1.2. Оксид азота, микрореология эритроцитов и эффективность обмена кислорода

Для анализа роли оксида азота в изменениях микрореологии и эффективности транспорта кислорода были исследованы у лиц двух групп с разным уровнем обеспечения организма кислородом. Разделение на две группы (группа 1 – менее 40 млО₂/кг/мин и группа 2 – более 50 млО₂/кг/мин) было выполнено на основе определения величины максимального потребления кислорода (МПК), при помощи нагрузочного тестирования и регистрации потребления О₂ и выделения СО₂. Показатели кислородного обеспечения организма и микрореологические характеристики эритроцитов лиц двух сравниваемых групп приведены в таблице 1. У испытуемых группы 2 МПК было существенно выше, чем у лиц группы 1. Разница составила 34% ($p < 0,01$). Сходной была и разница в напряжении кислорода (pO_2) в коже предплечья (32%, $p < 0,05$). Метаболизма оксида азота (по содержанию NO_x) у лиц группы 2 были на 17% выше, чем в группе 2 ($p < 0,05$, табл. 1). При более низкой вязкости крови и сходных величинах гематокрита, их отношение, как показатель эффективности транспортной функции крови [11] у лиц группы 2, было на 10% больше, чем в группе 1 (табл. 1). МПК – максимальное потребление кислорода; NO_x – соотношение нитраты/нитриты, как показатель обмена NO; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов, как показатель их деформируемости; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; ВС – вязкость суспензии эритроцитов с гематокритом 40%; Hct/η – отношение гематокрита к вязкости крови, как показатель ее транспортного потенциала. Анализ основных микрореологических характеристик показал, что деформируемость эритроцитов статистически достоверно, была больше у лиц группы с высоким МПК ($2,01 \pm 0,01$ отн. ед. – группа 1 и $2,12 \pm 0,02$ отн. ед. – группа 2; разница составила 5,5%, $p < 0,05$).

Таблица 1. Показатели микрореологии эритроцитов, содержания NOx в крови и величины МПК и pO_2 в коже у лиц с разным кислородным обеспечением организма ($M \pm m$)

Показатели	Группа 1 (n=24)	Группа 2 (n=24)
МПК, мл O_2 /кг/мин	43,8 $\pm$ 1,8	58,6 $\pm$ 1,9**
pO_2 , мм рт. ст.	32,81 $\pm$ 2,32	43,45 $\pm$ 3,30*
NOx, мкмоль/л	39,8 $\pm$ 1,2	34,1 $\pm$ 1,5*
ИУЭ, отн. ед.	2,01 $\pm$ 0,01	2,12 $\pm$ 0,02*
ПАЭ, отн. ед.	17,90 $\pm$ 1,16	14,83 $\pm$ 1,24**
ВС, мПа·с	4,14 $\pm$ 0,10	3,85 $\pm$ 0,08*
Hct/ η , отн. ед.	11,70 $\pm$ 0,25	12,9 $\pm$ 0,30*

Примечания: * – различия по сравнению с показателями группы 1 достоверны при $p < 0,05$; **при $p < 0,01$; МПК – максимальное потребление кислорода; NOx – соотношение нитраты/нитриты, как показатель обмена NO; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов, как показатель их деформируемости; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов; ВС – вязкость суспензии эритроцитов с гематокритом 40%; Hct/ η – отношение гематокрита к вязкости крови, как показатель ее транспортного потенциала.

Об эффективной деформируемости эритроцитов у лиц группы 2 также свидетельствовала и меньшая на 7,3% ($p < 0,05$) вязкость суспензии клеток. Деформируемость эритроцитов положительно коррелировала с величиной МПК, с коэффициентом, равным $r = 0,582$ ($p < 0,01$) – в группе 1 и $r = 0,602$ ($p < 0,01$) – в группе 2. Различия в агрегации эритроцитов были более существенными и составили 17% ($p < 0,05$).

Таким образом, можно предполагать, что уровень NO в плазме может положительно сказываться на микрореологии эритроцитов и тем самым влиять на транспортный потенциал крови и величину МПК. На это указывали положительные корреляции между МПК и деформируемости эритроцитов (табл. 2).

Наличие корреляций между NOx в сыворотке крови и микрореологическими характеристиками эритроцитов позволяет предположить регуляторное воздействие этого типа сигнальных молекул на микрореологические характеристики этих клеток.

Для проверки этого предположения эритроциты инкубировали с донором NO, нитропруссидом натрия (НПН). Было установлено, что у лиц группы 1, под его влиянием произошло повышение ИУЭ на 6% ($p<0,01$), тогда как у лиц второй группы – на 12% (рис. 6, $p<0,01$). Снижение агрегации под влиянием НПН тоже было большим в группе 2 и составило 29% ($p<0,05$), тогда как в группе 1 – только 15%.

Таблица 2. Величины корреляций между МПК, показателями метаболизма оксида азота (NOx и рядом реологических характеристик крови и эритроцитов

Корреляции	Группа 1 (n=24)	Группа 2 (n=24)
МПК – ИУЭ	0,582**	0,602**
МПК – ВК1	-0,506**	- 0,707**
МПК – ВП	-0,344*	-0,375*
МПК – Hct/ η	0,568**	0,716**
МПК – NOx	- 0,387**	- 0,469**
NOx - ИУЭ	- 0,475**	- 0,498**
NOx - ПАЭ	0,343*	0,356*

Примечания: * коэффициенты корреляции достоверны при – $p<0,05$; ** при – $p<0,01$; МПК – максимальное потребление кислорода; NOx – содержание суммарных нитратов и нитритов; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ВК1 – вязкость крови при высоких скоростях сдвига; ВП – вязкость плазмы; Hct/ η – отношение гематокрита (Hct)/вязкость крови (η – обозначение вязкости в формулах); ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Результаты исследования показали, что у лиц с относительно высоким обеспечением организма кислородом эритроциты имели более эффективные микрореологические характеристики: сниженную агрегацию и вязкость суспензии эритроцитов, при повышенной их деформируемости. Наличие достоверных корреляций между величиной МПК и рядом реологических характеристик крови и эритроцитов свидетельствует о заметной роли текучести крови в транспорте кислорода.

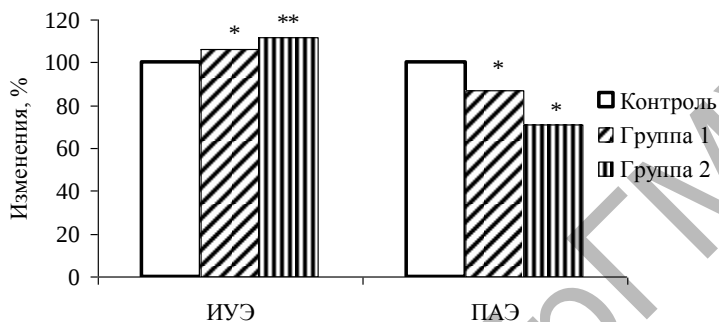


Рис. 6. Разная величина изменений деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) под влиянием донора ГТ у лиц с разным уровнем обеспеченности организма кислородом.

Примечания: * различия достоверны относительно контроля, при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Нитропруссид натрия и L-аргинин умеренно повышали деформируемость эритроцитов и существенно снижали их агрегацию. При этом было установлено, что у лиц с высоким уровнем обеспеченности организма кислородом, микрореологические ответы на ГТ были более существенными. Кроме того снижение агрегации и адгезии лейкоцитов и тромбоцитов, в этих условиях, способствует повышению эффективности капиллярной перфузии. Прирост деформируемости эритроцитов сочетается с большим выходом из них АТФ, обладающего вазодилатирующим эффектом. Существенное снижение агрегации эритроцитов под влиянием NO ведет к уменьшению вязкости крови при низких скоростях сдвига, что характерно для венул и вен, и тем самым способствует приросту текучести крови в этом важном отделе системы кровообращения, где формируется оптимальный диастолический объем сердца на основе эффективного венозного возврата.

II. Роль сероводорода в регуляции кровообращения и микроциркуляции клеток крови

Сероводород (H_2S) известен как токсичный газ с запахом, напоминающим запах тухлых яиц. Это важный компонент в происхождении жизни, и он продолжает оставаться критически важным для жизни на нашей планете. Он представляет собой бесцветный газ, хорошо растворимый в воде. Сульфид водорода (H_2S) хорошо проницаем для плазматических мембран клеток, поскольку его растворимость в липофильных растворителях в пять раз выше, чем в воде. Следовательно, сероводород может легко диффундировать через клетки и достигать внутриклеточных компартментов, содержащих молекулярные мишени [24]. Биосинтез сероводорода наблюдается в клетках современных животных и растений, а также у прокариот и грибов. Такие ферменты как цистатионин- β -синтаза (CBS) и цистатионин- γ -лиаза (CSE), а также 3-меркаптопируват серотрансфераза (3-MST) участвуют в этом процессе (рис. 7):

- 1) CBS – Цистатионин- β -синтаза;
- 2) CSE – Цистатионин- γ -лиаза;
- 3) 3-MST – 3-меркаптопируват серотрансфераза.

Все три фермента используют L-цистеин для образования сульфида водорода [25]. В процессе метаболизма H_2S окисляется до сульфита в митохондриях при помощи фермента тиосульфат-редуктазы [26]. Сигнальная роль H_2S , главным образом связана с его способностью модифицировать различные белковые мишени, в частности, путем перисульфидирования белковых остатков цистеина и взаимодействием с металлическими центрами, главным образом геммами [27]. Было показано, что H_2S регулирует множество клеточных процессов и в том числе играет существенную роль как сигнальная молекула в функционировании сердечнососудистой системы [28, 29].

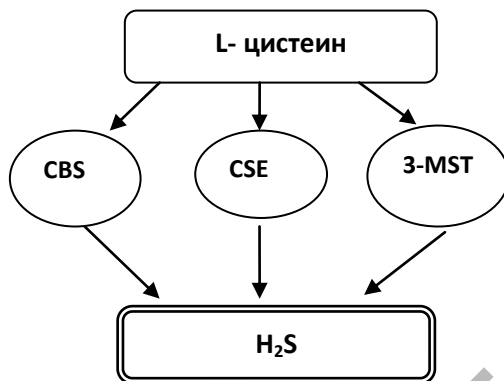


Рис. 7. Пути биосинтеза эндогенного сероводорода (H_2S).

Примечания: CBS – цистатионин- β -синтаза; CSE – цистатионин- γ -лиаза; 3-MST – 3-меркаптопируват серотрансфераза

Сероводород генерируется эндогенно в гладкомышечных клетках (ГМК) сосудов. Было показано, что в экспериментальных условиях, он индуцирует, зависимое от концентрации, расслабление тканей аорты крысы, на которое не влияла денервация сосудов [30]. Аналогичным образом, ингибирование eNOS или блокада KCa-каналов снижали вызванную донором сероводорода релаксацию ткани аорты с интактным эндотелием. Важно заметить, что релаксация, вызванная нитропруссидом натрия (НПН), полностью устранялась ODQ - ингибитором р-ГЦ. Однако, в этих условиях, ингибирование р-ГЦ усиливало вызванную H_2S вазорелаксацию, которая подавлялась супероксиддисмутазой. Вазорелаксирующий эффект H_2S также значительно снижался при удалении из инкубационной среды Ca^{2+} . Кроме того, предварительная обработка тканей аорты H_2S снижала релаксацию ГМК сосудов в ответ на донор NO, нитропруссид натрия [30]. Эти данные демонстрируют, что сосудистый эффект – релаксация ГМК сероводородом частично опосредована функциональным состоянием эндотелия и зависит

от поступления Ca^{2+} из внеклеточной среды, но не зависит от активации гуанилатциклазного сигнального каскада. Таким образом, приведенные выше материалы исследования роли сероводорода в регуляции кровеносных сосудов свидетельствуют о существенном влиянии этой сигнальной молекулы на сосудистый тонус. Что касается клеток крови, циркулирующих в сосудах, то информации о влиянии на их функции значительно меньше. Имеются только отдельные публикации, где сообщается об ингибирующем влиянии H_2S на агрегацию тромбоцитов [31] и практически отсутствуют сведения о его действии на микрореологию эритроцитов. Полученные нами данные позволяют, в некоторой степени, устранить этот пробел в изучении влияния сульфида водорода как газотрансмиттера на текучесть крови, микрореологию эритроцитов и их транспортный потенциал [32]. Было установлено, что инкубация эритроцитов с донором H_2S гидросульфидом натрия (NaHS) сопровождалась приростом их деформируемости (на 8-12%, $p < 0.01$) и заметным уменьшением агрегации, на 16-24% (рис. 8).

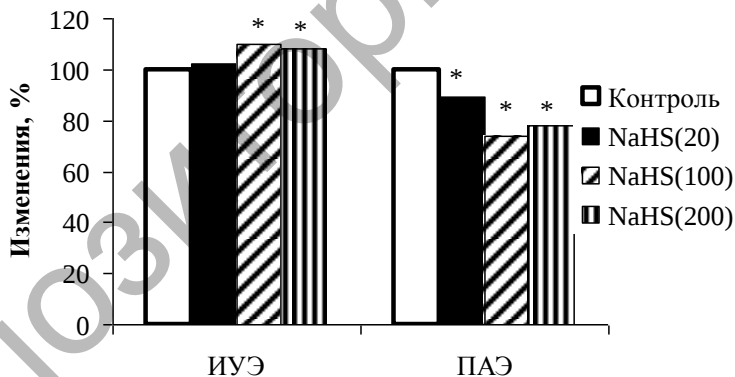


Рис. 8. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с гидросульфидом натрия (NaHS) в трех концентрациях: NaHS (20) – концентрация 20 мкМ; NaHS (100) – концентрация 100 мкМ; NaHS (200) – концентрация 200 мкМ.

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно при $p < 0.05$.

В качестве молекулярной мишени для сероводорода в клетках чаще всего рассматривают АТР-зависимые K^+ -каналы ($K^+_{АТР}$) [33]. Они блокируются глибенкламидом. В наших опытах глибенкламид не препятствовал приросту деформируемости эритроцитов под действием NaHS, и не устранял полностью снижения ПАЭ (рис. 9).

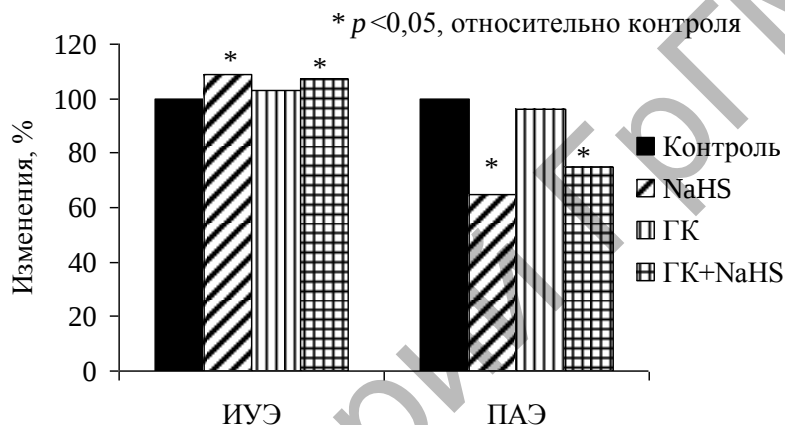


Рис. 9. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) под влиянием донора сероводорода NaHS и его сочетанием с блокатором $K^+_{АТФ}$ -каналов глибенкламидом (ГК, 50 мкМ).

С другой стороны, ингибирование р-ГЦ с помощью ODQ полностью устраняло прирост деформируемости и значительно ограничило снижение ПАЭ под влиянием NaHS (рис. 10).

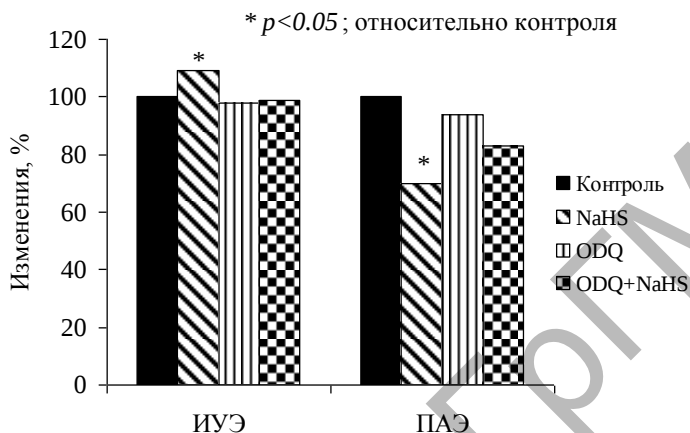


Рис. 10. Изменения деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) под влиянием донора сульфида водорода после ингибирования р-ГЦ с помощью ODQ.

Сравнение микрореологических ответов эритроцитов на действие донора H_2S в условиях блокирования K^+_{ATP} – каналов и ингибирования р-ГЦ, позволяют предположить, что сероводород, как газовый медиатор в значительной степени использует NO ассоциированный сигнальный путь. Опыты с ингибированием eNOS с помощью N-Nitroarginine methyl ester (L-NAME, 200 мкМ) подтверждают участие элементов NO регуляторного каскада в изменениях микрореологии эритроцитов под влиянием H_2S . Так на интактных эритроцитах было получено устранение подъема их деформируемости (на 9%, $p < 0,01$), если клетки предварительно инкубировали с L-NAME (рис. 11А). Сходную картину изменения наблюдали и в опытах с восстановленными теньями эритроцитов (рис. 11Б).

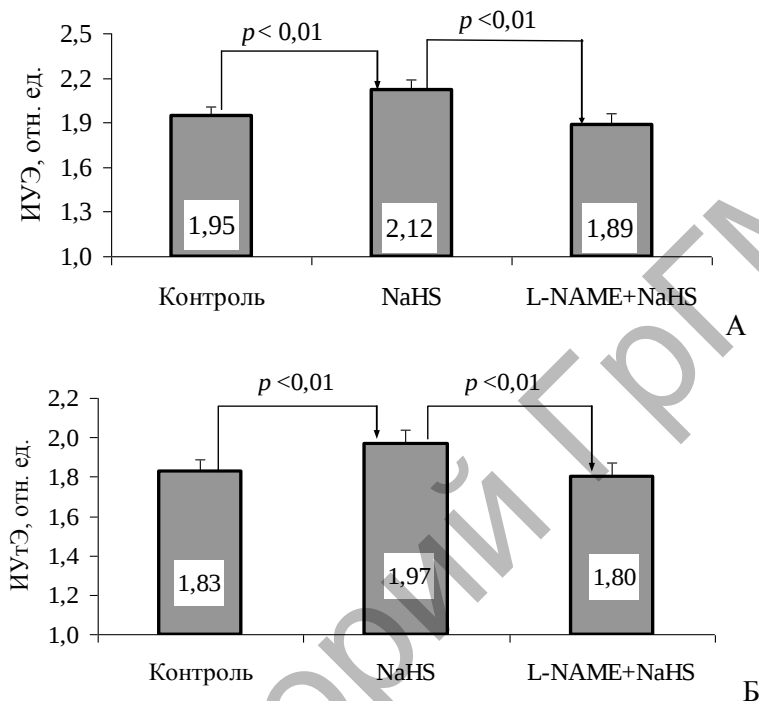


Рис. 11. Изменение деформируемости intactных эритроцитов (А) и их восстановленных теней (Б) под влиянием донора сероводорода (NaHS) и их сочетанного воздействия с ингибитором eNOS, (L-NAME+NaHS).

Поскольку эндогенные концентрации H_2S обычно низкие, что затрудняет определение точных биологических функций, то исследования физиологической роли H_2S с его экзогенной доставкой в виде доноров, на клеточных моделях микрореологических ответов эритроцитов, помогут понять механизмы его действия и уточнить внутриклеточные молекулярные мишени. Как ранее было показано, отдельно НПН повышал ИУЭ на 8% и снижал ПАЭ от 20 до 30% ($p < 0,01$). Примерно на такие же величины изменялись

микрореологические характеристики эритроцитов при их инкубации с NaHS: ИУЭ на 8-9%, а ПАЭ – на 31% ($p<0,01$). Одновременное применение двух доноров ГТ сопровождалось большим приростом ИУЭ, на 13% и снижением агрегации более, чем на 40% ($p<0,01$). При этом важно заметить, что применение комплекса двух доноров привело к достоверно большему приросту ИУЭ, чем их отдельное использование (рис. 12).

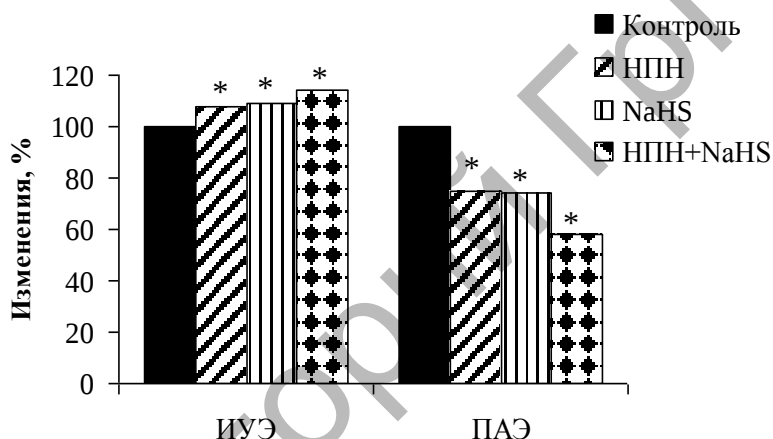


Рис. 12. Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) под влиянием отдельно применяемых доноров оксида азота (НПН) и сероводорода (NaHS) и при их совместном применении (НПН+ NaHS).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно при $p<0,01$.

Эритроциты, разделенные в градиенте плотности на фракции молодых, зрелых и старых клеток инкубировали с донором оксида азота, НПН. Было установлено, что все фракции эритроцитов отвечали на этот донор приростом деформируемости (рис. 13). Хотя исходно их деформируемость

существенно различалась. Молодые эритроциты были на 17% ($p<0,01$) более деформируемы, чем старые клетки. Однако после инкубации с НПН эта разница уменьшилась до 8%, а прирост ИУЭ у старых клеток, под влиянием донора, составил 13% (у молодых клеток – только 4%).

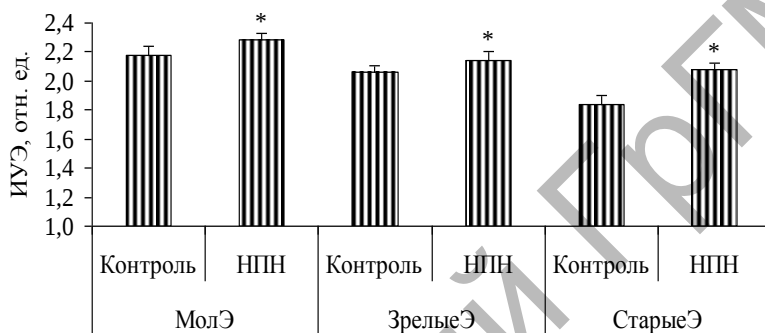


Рис. 13. Изменение деформируемости (ИУЭ) эритроцитов трех возрастных фракций (молодые, старые и зрелые клетки) под влиянием донора NO, нитропруссид натрия (100 мкМ).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно при $p<0,01$.

Под влиянием донора сероводорода, гидросульфида натрия (NaHS , 100 мкМ) наблюдали умеренный прирост деформируемости (ИУЭ) во всех трех возрастных фракции эритроцитов ($p<0,01$, рис. 14). При этом молодые эритроциты имели увеличение ИУЭ на 4%, зрелые – на 7%, а старые эритроциты – 13% ($p<0,01$).

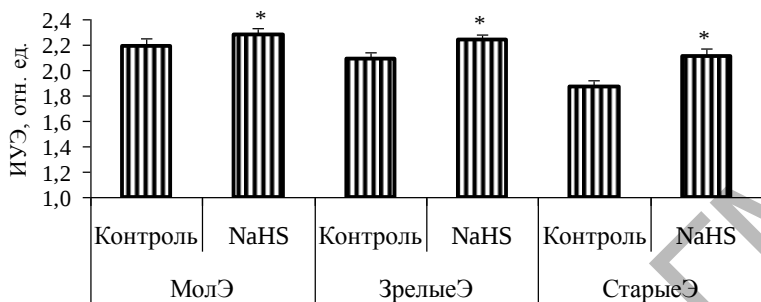


Рис. 14. Изменение деформируемости (ИУЭ) эритроцитов трех возрастных фракций (молодые, старые и зрелые клетки) под влиянием донора H_2S , гидросульфида натрия (NaHS, 100 мкМ).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно при $p < 0,01$.

Сравнение микрореологических ответов эритроцитов на NaHS в группах лиц, с разным уровнем обеспечения кислородом, выявило разницу в изменениях этих параметров клеток. Так в группе 1 ДЭ возросла на 7%, в группе 2 – на 12%, а в группе 3 – на 17% ($p < 0,01$). Снижение агрегации эритроцитов было более выраженное у лиц с самым высоким уровнем МПК (группа 3, рис. 15), где снижение АЭ составило 41% ($p < 0,01$), тогда как в группе 1 и 2 только на 13 и 25%, соответственно. Субстрат синтеза сероводорода, L-цистеин также повышал ДЭ и снижал АЭ ($p < 0,05$). Однако величины изменений были несколько меньше. Так ИУЭ возрос на 5-6%, а снижение агрегации эритроцитов составило 25% (с $8,43 \pm 1,09$ до $6,32 \pm 0,54$ отн. ед., $p < 0,01$). Достоверных различий в микрореологических ответах на L-цистеин в трех группах с разным МПК, выявлено не было.

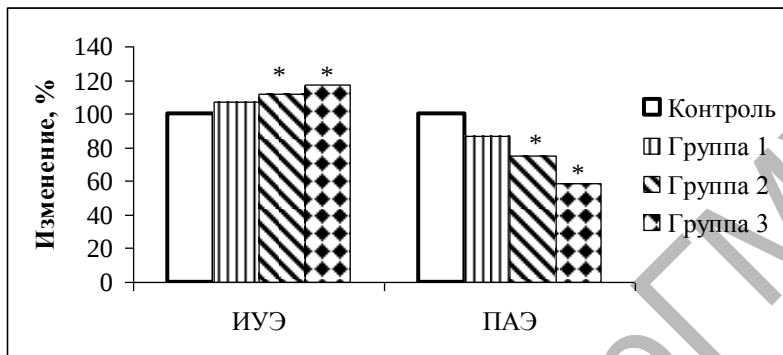


Рис. 15. Изменение микрореологических показателей под влиянием NaHS

у лиц трех групп с разным уровнем обеспеченности кислородом.

Примечания: * $p < 0,01$ различия достоверны относительно контроля; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПАЭ – показатель агрегации эритроцитов.

Вместе с тем, как и при инкубации эритроцитов с NaHS, под влияние стимулятора синтеза H_2S , L-цистеин (100 мкМ) у лиц группы 3 ответы были несколько более выраженными. Таким образом, H_2S представляет собой важную сигнальную молекулу сердечно-сосудистой системы, подобную оксиду азота и монооксиду углерода, с сильным влиянием на функции кровообращения и микрореологию клеток крови. Понимание механизмов защитного действия H_2S на сердце и сосуды в сочетании с разработкой новых веществ-доноров, высвобождающих H_2S , может способствовать продвижению в клиническую практику этого газового медиатора.

III. Роль монооксида углерода в изменениях кровообращения и микрореологии клеток крови

Монооксид углерода наряду с оксидом азота и сероводородом принадлежит к семейству газотрансмиттеров и вовлечен в регуляцию многих физиологических процессов

организма [34]. Для понимания регуляторных эффектов в системе кровообращения важно иметь в виду, что CO индуцирует вазорелаксацию в результате прямого воздействия на гладкие мышцы сосудов [7]. Он образуется в процессе клеточного метаболизма с участием фермента гемоксигеназы (HO), которая вместе с NADPH-цитохром-Р450-редуктазой, расщепляет гемовое кольцо в гемопroteинах на биливердин, CO и железо (рис. 16) [35].

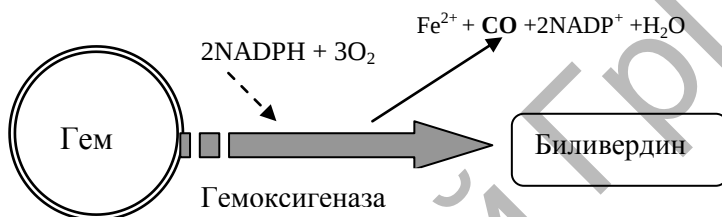


Рис. 16. Образование монооксида углерода из гемма с помощью фермента гемоксигеназы.

Выделены индуцибельная HO (HO-1) и конститутивная HO (HO-2). Экспрессия HO-1 реализуется как в эндотелии, так и гладких мышцах кровеносных сосудов. Индукция HO-1 происходит как общий клеточный и тканевый ответ на стресс. Образование эндогенного CO, в этих условиях, может обеспечивать цитопroteкцию и являться важным фактором, участвующим в модуляции тонуса сосудов при гипоксии. В системе микроциркуляции CO вызывает вазодилатацию артериол, а также оказывает защитное действие на сосуды миокарда. Кроме того, эндогенный CO ингибирует агрегацию тромбоцитов и их адгезию к стенкам сосудов, а также регулирует роллинг и адгезию лейкоцитов [36]. Монооксид углерода, как и другие газообразные посредники (NO и H_2S), действуют через принципиально отличные от классических транsmиттеров, рецепторнезависимые механизмы, в том числе прямо через химическую модификацию белков ионных каналов, например, кальцийзависимых калиевых каналов [37], а также косвенно - через ряд вторичных посредников, которые влияют

на основную клеточную функцию ГМК – на их сократимость. Предложено три основных клеточных механизма для объяснения сосудорасширяющего действия СО, они включают:

- 1) Активацию растворимой гуанилатциклазы (р-ГЦ) [11];
- 2) Стимуляцию различных типов К-каналов (например, Ca^{2+} -активируемых K^{+} -каналов [37];
- 3) Ингибирование системы цитохрома Р450-зависимой монооксигеназы в клетках гладких мышц сосудов [20].

Было установлено, что СО расширяет артерии и артериолы за счет активации $\text{K}(\text{Ca})$ -каналов гладкомышечных клеток сосудов. Доноры СО и сам газовый медиатор активировали кальций зависимые калиевые каналы в вырезанных участках плазматической мембраны аорты, в условиях, когда цитозольные сигнальные белки отсутствуют, а киназы неактивны [7]. Известно, что эффективность доставки кислорода и субстратов окисления в тканевые микрорайоны зависит не только от состояния регионарного кровотока и микроциркуляции. На уровне обменных капилляров существенное влияние на кровоток оказывает деформируемость эритроцитов, а в посткапиллярном отделе сосудистой системы – их обратимая агрегация [15]. Исследование влияние донора СО – монооксида углерода высвобождающей молекулы-3 (CORM-3) показало, что также как и в ответ на доноры NO и H_2S происходит достоверный умеренный прирост деформируемости эритроцитов (на 8-11%, $p < 0.01$) и выраженное уменьшение агрегации клеток, более чем на 40%. Наибольший эффект наблюдался при концентрации донора, равной 100 мкМ (рис. 17).

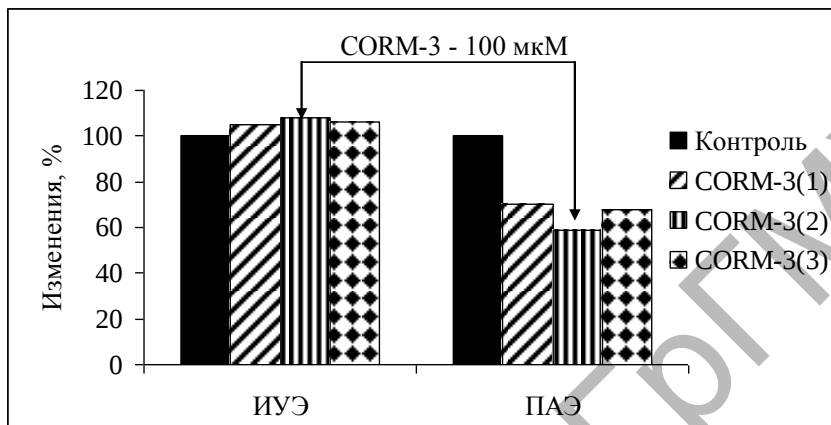


Рис. 18. Изменения деформируемости (а) и агрегации эритроцитов (б) относительно контроля после их инкубации с CORM-3 в разных концентрациях: 1 – 25 мкМ, 2 – 100 мкМ, 3 – 150 мкМ.

Примечания: стрелками указана концентрация донора CO, (CORM-3, 100 мкМ) при которой микрореологические эффекты были наибольшими.

Как было сказано выше, в качестве основной молекулярной мишени для действия CO в клетках рассматривают K(Ca)-каналы. Их можно блокировать тетраэтиламмонием (TEA, 50 мкМ). Было установлено, что CORM-3 умеренно повышал ИУЭ (на 9%, $p < 0.01$), а снижение агрегации достигло 38% ($p < 0.05$). TEA уменьшил влияние CORM-3 на деформируемость эритроцитов, но не устранил его полностью. Что касается агрегации, то TEA полностью устранил снижение ПАЭ, происходящее под влиянием CORM-3 (рис. 18).

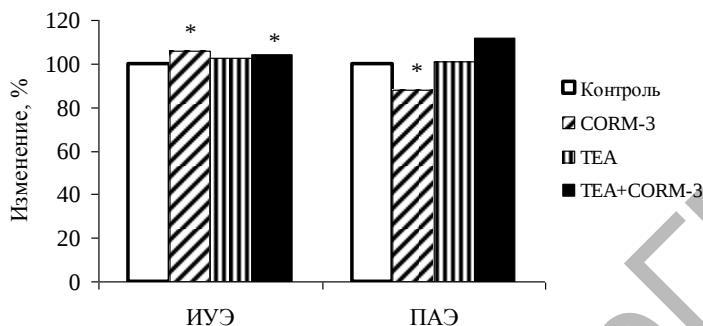


Рис. 18. Изменения деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) под влиянием донора монооксида углерода (CORM-3) и его сочетанного воздействия с блокатором K(Ca)-каналов тетраэтиламмонием (TEA).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно при $p < 0,05$.

Известно, что NO- и CO-индуцированные изменения клеточных функций опосредуются с участием р-ГЦ и ц-ГМФ, хотя CO, как газотрансмиттер, гораздо менее эффективен при активации гуанилатциклазы, чем NO [38]. Как было показано выше, соединение ODQ является эффективным ингибитором р-ГЦ. Прединкубация эритроцитов полностью устраняла повышение деформируемости эритроцитов под влиянием НПП и NaHS. Мы проверили предположение о том, что микрореологические ответы эритроцитов на монооксид углерода с участием этой молекулярной клеточной мишенью эритроцитов. Так если при инкубации с CORM-3 деформируемость эритроцитов достоверно возрастала на 8% ($p < 0,05$), а их агрегация снижалась на 30%, то после предварительной инкубации клеток с ODQ, эти положительные микромеханические эффекты донора устранялись (рис. 19).

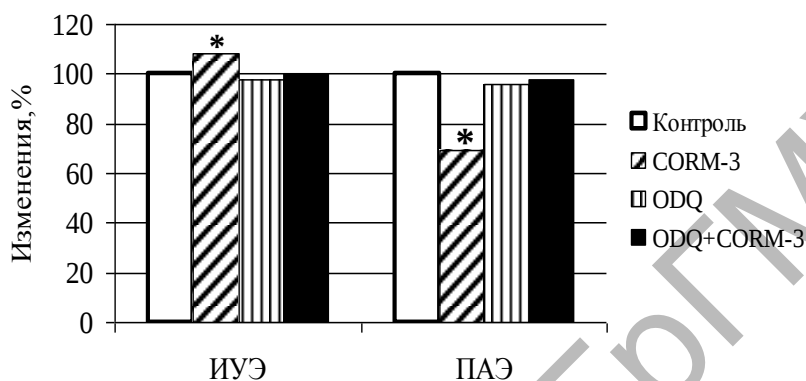


Рис. 19. Изменения деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) под влиянием CORM-3 - донора монооксида углерода и после ингибирования р-ГЦ с помощью ODQ.

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно при $p < 0,05$.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют еще об одном механизме кросс-общения газотрансмиттеров. Так было показано, что если ингибировать активность eNOS в эритроцитах с помощью L-NAME, то микрореологические эффекты CORM-3 практически полностью устранялись. При этом было установлено некоторое проагрегантное действие L-NAME в отдельности и в сочетании с донором CO (рис. 20).

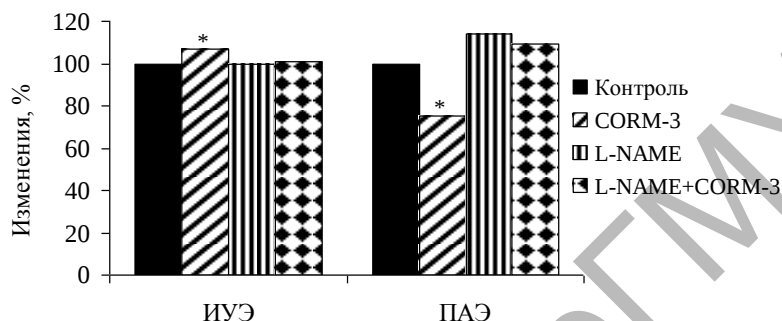


Рис. 20. Изменение деформируемости (ИУЭ) и агрегации эритроцитов (ПАЭ) после их инкубации с CORM-3, L-NAME и их сочетанным воздействием (L-NAME+ CORM-3).

Примечания: * Отличие от контроля статистически достоверно ($p < 0,01$).

Донор монооксида углерода (CORM) высвобождает молекулы CO. Этим обеспечивается доставка контролируемых количеств CO для регуляции работы биологических систем [39]. Результаты исследования показали, что CORM-3 заметно повышает эластичность мембран эритроцитов и их деформируемость в целом. Вместе с выраженным снижением агрегации это может существенно сказываться на перфузии тканей. Рассмотрение влияния CO на микрореологические свойства эритроцитов и анализ вероятных внутриклеточных сигнальных путей позволило установить положительные эффекты этого газотрансммиттера, которые по направленности и величине были сопоставимы с двумя другими газовыми медиаторами: оксидом азота и сероводородом. Как было сказано выше в качестве одной из основных молекулярных мишеней для CO в клетках могут быть Ca^{2+} -зависимые калиевые каналы (КСа-каналы). Когда CO взаимодействует с гемом, то это приводит к увеличению связывания кальция с каналом, причем и газотрансммиттер напрямую может связываться с КСа-каналом в нескольких местах [40]. При блокировании этих каналов с

помощью тетраэтиламмония происходило существенное снижение эффекта донора CO на деформируемость эритроцитов и полное устранение снижающего агрегацию влияния. Важно заметить, что донор CO и сам монооксид углерода активируют KCa-каналы не только на интактных клетках, а также в изолированных участках плазматической мембраны. Наряду с прямым действием монооксида углерода на KCa-каналы он, как и NO, активирует р-ГЦ и повышает уровень ц-ГМФ в клетках. Вполне вероятно, что в эритроцитах используются оба этих сигнальных пути для реализации эффектов CO, ассоциированных как с гуанилатциклазой и цГМФ, так и с KCa-каналами. Вместе с тем имеются данные о том, что CO может ингибировать образование NO в клетках, и эти газотрансмиттеры могут проявлять уникальные взаимодействия. Действительно, при ингибировании ключевого фермента образования оксида азота NO-синтазы с помощью L-NAME, устранялись положительные микрореологические эффекты донора CO. Более того, сам ингибитор заметно повышал агрегацию эритроцитов. Известно, что активация eNOS связана с системой кальций-кальмодулин [13], и нарушения их взаимодействия под влиянием L-NAME может способствовать повышению концентрации свободного Ca^{2+} в эритроцитах и, как следствие этого – нарастание агрегации [17]. В целом, очевидно, что монооксид углерода является важной сигнальной молекулой в системе кровообращения, он участвует как в регуляции тонуса сосудов, так и в изменениях микрореологических свойств клеток крови. Для эффективного транспорта кислорода в тканевые микрорайоны важно положительное влияние этого газотрансмиттера на деформируемость эритроцитов и на их обратимую агрегацию. Многие из основных механизмов, контролирующих паракринно артериолы, зависят от передачи сигналов, которые могут исходить от эритроцитов, которые выступают как сенсоры, так и регуляторы локального кровотока [41].

Заключение

На основе проведенного анализа литературы и рассмотрения собственных данных исследования микрореологических ответов эритроцитов на доноры трех газотрансмиттеров можно заключить, что каждый из них является:

1. Одной из важных эндогенных сигнальных молекул;
2. Модулирует функции сердечно-сосудистой системы и микрореологии клеток крови;
3. Ингибирует агрегацию эритроцитов и особенно тромбоцитов, их адгезию к стенкам сосудов, а также повышает деформируемость эритроцитов и их кислородтранспортные возможности;
4. Является перспективным соединением, которое может быть включено в одну из важных терапевтических стратегий при ряде заболеваний.

Для всех трех газотрансмиттеров выявлены наиболее вероятные сигнальные каскады с ключевыми молекулярными мишенями. Поскольку все три газотрансмиттера: H_2S , NO и CO имеют сходные способы действия и параллельные регулирующие цели, то накапливается все больше свидетельств о кросс-общении между этими газовыми медиаторами [8]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что H_2S и CO используют в своих эффектах NO-ассоциированный сигнальный путь (рис. 21). При этом газотрансмиттер стимулирует либо р-ГЦ, или активирует eNOS для последующего синтеза оксида азота, который далее и выполняет регуляторную роль [38].

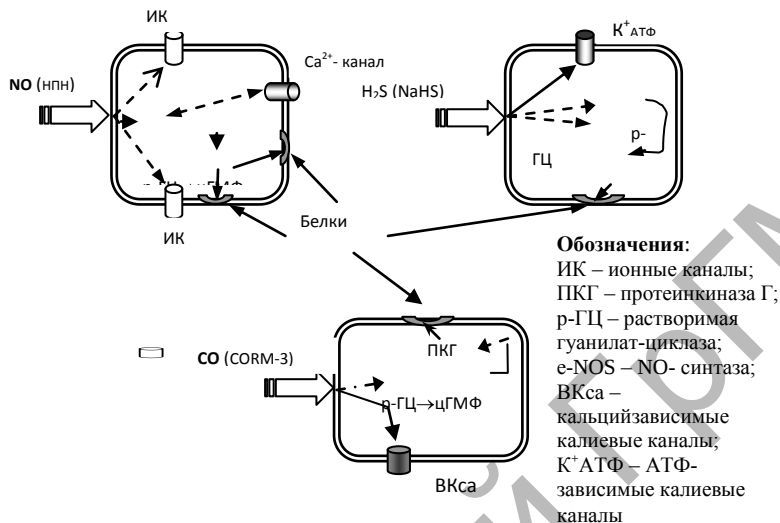


Рис. 21. Основные сигнальные пути, ассоциированные с влиянием трех доноров газотрансмиттеров на микрореологические свойства эритроцитов.

Дальнейшие исследования призваны уточнить роль газотрансмиттеров в понимании патогенных механизмов многих болезней, связанных с нарушениями их метаболизма, а также проложить путь для инновационных, профилактических и терапевтических стратегии, основанный на физиологических эффектах газотрансмиттеров.

Библиографический список

1. Li H., Förstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease // The Journal of Pathology. – 2000. – Vol.190 (3). – 244-254. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190.
2. Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H. Signaling by gasotransmitters // Sci Signal.- 2009. – Vol. 2(68):re2. DOI:10.1126/scisignal.268re2. PATH575>3.0.CO. - 2-8.
3. Sélley E., Kun S., Szijártó I. A. et al. Exenatide induces aortic vasodilation increasing hydrogen sulphide, carbon monoxide

and nitric oxide production. // Cardiovascular Diabetology. – 2014. – Vol. 13. - 69-76. DOI: 10.1186/1475-2840-13-69.

4. Belew M., Quazi F., Willmore W., and Aitken S. Kinetic characterization of recombinant human cystathionine β -synthase purified from *E. coli* // Protein Expression and Purification. – 2009. – Vol. 64. - 139-145 <https://doi.org/10.1016/j.pep.2008.10.012>.

5. Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Зефилов А.Л. Газомедиаторы: от токсических эффектов к регуляции клеточных функций и использованию в клинике // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т.13(6). – 185–200. DOI.org/10.20538/1682-0363-2014-6-185-200.

6. Martelli A., Testai L., Breschi M.C., Lawson K., McKay N.G., Miceli F., Taglialatela M., Calderone V. Vasorelaxation by hydrogen sulphide involves activation of Kv7 potassium channels // Pharmacol Res. – 2013. – Vol. 70. - 27–34. DOI: 10.1016/j.phrs.2012.12.005.

7. Jaggar J.H., Li A., Parfenova H., Liu J., Umstot E.S., Dopico A.M., Leffler C.W. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels // Circ Res. – 2005. – Vol. 97. - 805–812. DOI: 10.1161/01.RES.0000186180.47148.7b.

8. Ignaro L.G., Buga G.M., Wood K.S. Endothelium derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1987. – Vol. 84. - 9265-9269. DOI: 10.1073/pnas.84.24.9265.

9. Miculescu Adriana. Nitric oxide and pain: «Something old, something new»/ Adriana Miculescu and Torsten Gordh //Acta Anaesthesiologica Scandinavica. – 2009. – Vol. 53 (9). – P. 1107–11208.

10. Dessy C., Ferron O. Pathophysiological Roles of Nitric Oxide: In the Heart and the Coronary Vasculature // Current Medical Chemistry – Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents. – 2004. – Vol. 3(3). - 207-216. DOI:10.2174/1568014043355348.

11. Wobst J., Rumpf P.M., Dang T.A., Segura-Puimedon M., Erdmann J., Schunkert H. Molecular variants of soluble guanylyl cyclase affecting cardiovascular risk // Circ. J. – 2015. – Vol. 79. - 463–469. DOI: 10.1253/circj.CJ-15-0025.

12. Irwin C., Roberts W., Naseem K.M. Nitric oxide inhibits platelet adhesion to collagen through cGMP-dependent and independent mechanisms: the potential role for S-nitrosylation // *Platelets*. – 2009. – Vol. 20. - 478-486. DOI: 10.3109/09537100903159375.

13. Forstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function // *Eur Heart J*. – 2012. – Vol. 33(7). - 829–837. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr304.

14. Dejam A., Hunter Ch J., Pelletier M.M. et al. Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood // *Blood*. – 2005. – Vol. 106(2). - 734-739. DOI 10.1182/blood-2005-02-0567.

15. Popel A.S., Johnson P.C. Microcirculation and Hemorheology // *Annu. Rev. Fluid. Mech.* – 2005. – Vol. 37. - 43–69. DOI: 10.1146/annurev.fluid.37.042604.133933.

16. Sprague R.S., Ellsworth M.L. Erythrocyte-derived ATP and perfusion distribution: role of intracellular and intercellular communication // *Microcirculation*. – 2012. – Vol. 19(5). - 430–439. DOI: 10.1111/j.1549-8719.2011.00158.x.

17. Ulker P., Sati L., Celik-Ozenci C., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes // *Biorheology*. – 2009. – Vol. 46(2). - 121-132. DOI: 10.3233/BIR-2009-0532.

18. Uyuklu M., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Role of hemoglobin oxygenation in the modulation of red blood cell mechanical properties by nitric oxide // *Nitric Oxide*. – 2009. – Vol. 21. - 20–26. DOI: 10.1016/j.niox.2009.03.004.

19. Mozar A., Connes P., Collins B., Hardy-Dessources M.D., Romana M., Lemonne N., Bloch W., Grau M. Red blood cell nitric oxide synthase modulates red blood cell deformability in sickle cell anemia // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2016. – Vol. 64. - 47–53. DOI: 10.3233/CH-162042.

20. Feelisch M., Kotsonis P., Siebe J., Clement B., Schmidt H.H. The soluble guanylyl cyclase inhibitor 1H-[1,2,4]oxadiazolo[4,3,-a]quinoxalin-1-one is a nonselective heme protein inhibitor of nitric oxide synthase and other cytochrome P-450 enzymes involved in

nitric oxide donor bioactivation // *Mol. Pharmacol.* – 1999. – Vol. 56(2). – 243–253. DOI: 0.1124/mol.56.2.243.

21. Starzyk D., Korbut R., Gryglewski R.J. Effects of nitric oxide and prostacycline on deformability and aggregability of red blood cells of rats ex vivo and in vitro // *J Physiol Pharmacol.* – 1999. – Vol. 50; 629-637.

22. Naseem K.M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases // *Mol Aspects Med.* – 2005. – Vol. 26(1–2). – 33–65. DOI: 10.1016/j.mam.2004.09.003.

23. Salazar Vázquez, Tsai A.G., Intaglietta M. Nonlinear cardiovascular regulation consequent to changes in blood viscosity // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2011. – Vol. 49(1-4). – 29–36. DOI: 10.3233/CH-2011-1454.

24. Mancardi D., Penna C., Merlino A., Del Soldato P. Physiological and pharmacological features of the novel gasotransmitter: Hydrogen sulphide // *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2009. – Vol. – Vol. 1787. – 864–872. DOI:10.1016/j.bbabi.2009.03.005.

25. Shen Y., Shen Z., Luo S., Guo W., Zhu Yi. Z. The Cardioprotective Effects of Hydrogen Sulfide in Heart Diseases: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Potential // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2015. – Article ID 925167. 13. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/925167>.

26. Kamoun H. H₂S, a new neuromodulator // *Medecine/Sciences.* – 2004. – Vol. 20(6-7). – 697-700. DOI:10.1051/medsci/2004206-7697

27. Giuffrè A., Vicente J.B. Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2018. – 6290931. DOI: 10.1155/2018/6290931. eCollection 2018.

28. Beltowski J. Hydrogen sulfide as a biologically active mediator in the cardiovascular system // *Postepy. Hig. Med. Dosw.* – 2004. – Vol. 58. – 285-291.

29. Geng B., Yang J., Qi Y., Zhao J., Peng Y., Du J., Tang C. H₂S generated by heart in rat and its effects on cardiac function // *Biochem.Biophys. Res. Commun.* – 2004. – Vol. 313. – 362-368. DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.11.130.

30. Zhao Weimin., Rui Wang. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2002. – Vol. 283. - H474–H480, DOI: 10.1152/ajpheart.00013.

31. Truss N.J., Warner T.D. Gasotransmitters and platelets // *Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. - 132: 196–203. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2011.07.001.

32. Muravyov A.V., Antonova N., Tikhomirova I.A. Red blood cell micromechanical responses to hydrogen sulfide and nitric oxide donors: Analysis of crosstalk of two gasotransmitters (H₂S and NO) // *Series on Biomechanics.* – 2019. – Vol. 33. - 34–40.

33. Green B.D., Hand K.V., Dougan J.E., McDonnell B.M., Cassidy R.S., Grieve D.J. GLP-1 and related peptides cause concentration-dependent relaxation of rat aorta through a pathway involving K_{ATP} and cAMP // *Arch Biochem Biophys.* - 2008. – Vol. 478. - 136-142. DOI: 10.1016/j.abb.2008.08.001.

34. Leffler Ch.W., Parfenova H., Jaggat J.H. Carbon monoxide as an endogenous vascular modulator // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2011. – Vol. 301. - 1-11. DOI: 10.1152/ajpheart.00230.2011.

35. Wang R. Resurgence of carbon monoxide: an endogenous gaseous vasorelaxing factor // *Can J Physiol Pharmacol.* – 1998. – Vol. 76(1). - -15. DOI:10.1139/cjpp-76-1-1.

36. Brune B., Ullrich V. Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide is mediated by activation of guanylate cyclase // *Mol Pharmacol.* – 1987. – Vol. 32. – Vol. 497–504.

37. Jaggat J.H., Parfenova H., Liu J. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels // *Circ. Res.* – 2007. – Vol. 97. - 805-812.

38. Koneru P., Leffler C.W. Role of cyclic GMP in carbon monoxide induced vasodilation in piglets // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2004. – Vol. 286. - H304–H309. DOI: 10.1152/ajpheart.00810.2003.

39. Soboleva T., Berreau L.M. 3-Hydroxyflavones and 3-Hydroxy-4-oxoquinolines as Carbon Monoxide-Releasing Molecules // *Molecules.* – 2019. – Vol. 24. - pii: E1252. DOI: 10.3390/molecules24071252.

40. Jaggar J.H., Li A., Parfenova H., Liu J., Umstot E.S., Dopico A.M., Leffler C.W.. Heme is a carbon monoxide receptor for large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels // *Circ Res.* -2005. – Vol. 97. - 805–812. doi: 10.1161/01.

41. Ellsworth M.L. Ellis C.G., Goldman D. Erythrocytes: oxygen sensors and modulators of vascular tone // *Physiology.* – 2009. – Vol. 24. - 107–116. DOI: 10.1152/physiol.00038.2008.

Глава 2. Влияние озона на механизмы транспорта кислорода при гипо/гипероксических условиях

В.В. Зинчук, Е.С. Билецкая

Гродненский государственный медицинский университет,
zinchuk@grsmu.by)

Озонотерапия обладает мощным терапевтическим действием при многих заболеваниях человека, благодаря оказываемым физиологическим эффектам: антибактериальный, фунгицидный, антивирусный, иммуномодулирующий, стимуляция микроциркуляции, репарации, антиоксидантной защиты, оптимизации обменных процессов. Озон вызывает окисление фосфолипидов и липопротеинов клеточных стенок бактерий, повреждая их. Точно так же он нарушает целостность вирусного капсида, способствуя инаktivации вирусов и вирусный репродуктивный цикл нарушается, вызывает необратимое повреждение вирусной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [21]. Данный газ улучшает кровообращение и доставку кислорода в ишемизированные ткани, а также увеличивает уровень 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ), усиливает общий обмен веществ за счет улучшения доставки кислорода, обеспечивает хорошее самочувствие у большинства пациентов, вероятно, посредством нейроэндокринной стимуляции, активизирует нейропротекторные системы [11]. Озонотерапия обеспечивает усиленную отдачу кислорода недостаточно кровоснабжаемым тканям, что подтверждено анализом газового состава крови: напряжение кислорода (pO_2) в венозной крови после курса озонотерапии снижается с 40 до 20 мм рт. ст., усиливается метаболизм в тканях, что нивелирует отрицательные эффекты гипоксемии, при которой в избытке образуются ионы OH^- , изменяющие, в частности, функции интерлейкина-1 [5]. При использовании данного метода способность к быстрой отдаче оксигемоглобином кислорода снижается очень медленно – в течение нескольких недель и даже месяцев, пролонгируя терапевтическое действие O_3 [2]. Важно отметить позитивное воздействие этого газа на микроциркуляцию за счёт активации фермента NO-синтазы,

являющимся мощным вазодилататором. Известно, что в результате применения лечебных доз O_3 возникают различные эффекты в клетках, биологических тканях, которые проявляются увеличением биосинтеза нуклеиновых кислот: активацией функции ядерного аппарата митохондрий, рибосом, системы ДНК-РНК-белок, что стимулирует окислительно-восстановительные процессы, увеличение поглощения тканями кислорода [13]. Проведение внутривенных инфузий озонированного физиологического раствора (в количестве 6 процедур через день в концентрации 2.2-2.4 мг/л) пациентам с диагнозом миастения, характеризовалось снижением активности свободнорадикальных процессов, проявляющихся односторонней тенденцией к уменьшению продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3]. Умеренный окислительный стресс, вызванный O_3 , способствует активации транскрипционного фактора, который называется ядерный фактор-2, родственник эритроидному фактору-2, данный фактор отвечает за активацию транскрипции элементов антиоксидантной системы, после чего повышается уровень антиоксидантных ферментов таких как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза, каталаза, гем-оксигеназа-1, НАДФН-хинон оксидоредуктаза, белков теплового шока [30]. У новорожденных, матери которых наряду с традиционной терапией получали ингаляции озон-кислородной смесью, отмечается снижение уровня супероксиддисмутазы, рост активности каталазы, истощение пула восстановленного глутатиона, что обеспечивает нормализацию исследуемых показателей и характеризуется уменьшением выраженности окислительного стресса и гипоксии [37].

В экспериментах на животных отмечаются положительные результаты при применении озонотерапии с целью профилактики окислительного стресса, вызванного возрастными изменениями. Было доказано, что введение низких доз O_3 оказывало позитивный терапевтический эффект на возрастные изменения в сердце и гиппокампе крыс, что подтверждалось снижением маркеров окисления липидов и

белков, уменьшением осаждения липофусцина, восстановлением уровней глутатиона и нормализацией активности глутатионпероксидазы в ткани сердца, ростом цитозольного кальция и восстановлением активности K^+/Na^+ -АТФазы в сердце и гиппокампе [24]. Длительное использование O_3 в высоких дозах (2,0 и 8,0 мкг) оказывает ингибирующее влияние на ПОЛ и общий антиоксидантный статус крови, повышая активность супероксиддисмутазы, а продолжительное воздействие O_3 в дозе 0,6 мкг оказывает менее выраженный токсический эффект [35]. Применение курса озонотерапии из 8-ми процедур у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких подтвердило, что регуляторный механизм действия медицинского O_3 может быть опосредован повышением уровня окислительного повреждения ДНК в начале лечения [10].

Терапия, проведенная пациентам пожилого возраста с ишемической болезнью сердца со стабильной стенокардией напряжения I–II функционального класса в виде внутривенного капельного введения озонированного физиологического раствора с концентрацией O_3 2-4 мг/л (3 раза в неделю на фоне приема нитратов или бета-блокаторов, или ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента) обеспечивает стабильный и равномерный антигипертензивный эффект, снижая среднесуточный уровень систолического ($p < 0,001$), диастолического ($p < 0,01$) артериального давления и урежая частоту сердечных сокращений [36].

Таким образом, O_3 обладает широкими и разнообразными эффектами на многие физиологические и патофизиологические процессы организма. Однако, особый интерес представляет его влияние на механизмы транспорта кислорода и его основные составляющие.

Важным аспектом исследования микрогемоциркуляции является понимание того, как характеристики крови и микрореологическое поведение её клеточных элементов обеспечивают транкапиллярный обмен и поступление кислорода (O_2) в ткани. Изучение закономерностей изменений содержания O_2 в комплексе с параметрами микрогемодинамики

представляется перспективным и необходимым для разработки патогенетически обоснованных индивидуализированных протоколов коррекции пациентов с гипоксическим синдромом [6]. Эритроциты, являясь переносчиками O_2 в организме, также участвуют в регуляции сосудистого тонуса в системе микроциркуляции, выступая в качестве сенсора для регуляции микрососудистого компонента, в тоже время газотрансммиттеры эндотелиального происхождения оказывают влияние на кислородтранспортную функцию (КТФ) крови [7]. Одним из основных факторов на микроциркуляторном русле, влияющим на насыщение тканей кислородом является изменение сродства к нему гемоглобина. В последние годы озон (O_3) активно используется для улучшения процессов микроциркуляции ишемизированных тканей. Озонотерапия аутологичной крови широко применяется для лечения пациентов с нарушением периферического кровообращения [31]. Данный эффект O_3 может быть связан, как ранее нами было показано, с тем, что происходит изменение КТФ крови, проявляющееся в увеличении pO_2 , SO_2 и уменьшении сродства гемоглобина к кислороду (СГК), выраженность которых усиливается с повышением концентрации озона и сопровождается ростом нитрат/нитритов, сероводорода в плазме [9]. Кроме того, озон оказывает влияние на прооксидантно-антиоксидантный баланс, что проявляется в увеличении содержания диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) в эритроцитарной массе, ретинола, α -токоферола, активности каталазы [9]. Озон также может индуцировать продукцию монооксида азота (NO) и улучшать реологические свойства крови [1]. NO-генерирующая система участвует в эффекте O_3 на КТФ крови [9]. В связи с этим особый интерес вызывает изучение эффектов озона при различных кислородных режимах и участии системы газотрансммиттеров (NO, H_2S). Было проведено изучение эффектов озона на кислородзависимые процессы крови в гипоксических условиях в опытах *in vitro* при введении доноров газотрансммиттеров. Образцы крови ($n=10$) разделяли на 6 групп по 3 мл. Применялась концентрация озона 6 мг/л. Изотонический раствор барбатировался озон-

кислородной смесью при помощи озонотерапевтической установки УОТА-60-01-Медозон (Россия), в которой предусмотрено измерение концентрации озона оптическим методом в ультрафиолетовом диапазоне. В первую контрольную группу добавляли 1,1 мл изотонического раствора хлорида натрия. Кровь 2 группы обрабатывали дезоксигенирующей газовой смесью (5,5% CO₂; 94,5% N₂) в термостатируемом сатураторе на протяжении 30 минут и добавляли 1,1 мл изотонического раствора хлорида натрия. В кровь 3 группы добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия. Кровь 4 группы дезоксигенировали и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия. Производили обработку дезоксигенирующей газовой смесью крови 5 группы и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л (SchwarzPharma AG). Кровь 6 группы также подвергали дезоксигенации и добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия в объеме 1 мл и 0,1 мл раствора, содержащего гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л (Sigma-Aldrich). Каждую пробу перемешивали и инкубировали на протяжении 60 минут. Характер изменения показателей КТФ крови в условиях влияния озона и обработки дезоксигенирующей газовой смесью представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в гипоксических условиях (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Дезоксигенация	Озон	Дезоксигенация + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SO ₂ , %	31,4 [25,3; 31,7]	18,10 [15,20; 23,10]*	33,30 [33,10; 36,30]*#	28,00 [24,10; 32,40]#Ψ	33,85 [32,80; 36,10]*#Ψ	23,50 [18,4; 28,00]ΨΩ

Показатель	Контроль	Дезоксигенация	Озон	Дезоксигенация + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
п	10	10	10	10	10	10
pO ₂ , мм рт.ст.	20,5 [18,8; 20,7]	14,85 [14,30; 15,00]*	24,90 [23,70; 26,60]*#	21,00 [18,80; 23,20]#Ψ	24,35 [20,90; 33,90]*#S	20,75 [16,40; 22,10]#ΨΩ
pH, ед	7,417 [7,411; 7,418]	7,286 [7,261; 7,304]*	7,431 [7,417; 7,470]*#	7,285 [7,264; 7,302]*Ψ	7,287 [7,268; 7,323]*Ψ	7,277 [7,237; 7,287]*Ψ
pCO ₂ , мм рт.ст.	34,2 [31,7; 36,8]	57 [54,60; 59,10]*	28,45 [25,30; 34,20]*#	54,35 [51,00; 58,90]*Ψ	51,80 [50,40; 53,70]*#Ψ	54,20 [49,60; 56,40]*Ψ
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	21,6 [20; 22,3]	28,20 [26,50; 29,60]*	20,55 [20,30; 21,50]#	26,35 [25,70; 26,70]*#Ψ	25,25 [23,30; 26,50]*#ΨS	27,05 [26,60; 28,60]*ΨΩ
TCO ₂ , ммоль/л	21,9 [21; 23,4]	30,05 [28,10; 31,40]*	20,8 [20,60; 22,40]*#	28,00 [27,40; 28,30]*#Ψ	26,85 [24,90; 28,40]*#Ψ	28,45 [27,90; 29,90]*Ψ
ABE, ммоль/л	-3,2 [-3,8; - 2,3]	0,10 [-0,20; 0,80]*	-4 [-4,70; - 3,60]#	-0,60 [-1,20; 0,30]*Ψ	-1,55 [-3,80; - 1,00]*#ΨS	0,20 [-0,10; 0,80]*ΨΩ
SBE, ммоль/л	-1,8 [-2,4; - 1,2]	0,65 [0,30; 1,00]*	-3,05 [-3,60; - 2,30]*#	-0,20 [-0,70; 0,50]*#Ψ	-1,20 [-3,00; - 0,90]#ΨS	0,60 [0,20; 1,30]*ΨΩ
SBC, ммоль/л	21,7 [21,2; 22,1]	24,55 [24,00; 26,00]*	21,60 [21,20; 22,20]#	23,40 [22,90; 24,20]*#Ψ	22,10 [20,90; 22,40]#S	23,80 [23,30; 24,40]*ΨΩ
p50 _{рхв} , мм рт.ст.	26,8 [25,5; 27,9]	22,16 [19,52; 24,29]*	30,95 [26,74; 38,60]*#	26,44 [25,27; 27,58]#Ψ	31,45 [30,62; 38,97]*#S	25,14 [24,53; 30,08]#Ψ Ω
p50 _{снв} , мм рт.ст.	26,5 [25,4; 27,7]	21,60 [21,00; 23,80]*	31,45 [26,70; 36,60]*#	24,50 [24,00; 26,10]*#Ψ	27,10 [26,90; 35,30]*#S	23,10 [22,10; 23,60]*SΨ Ω

Примечание: изменения в сравнении с группами: контрольной (*), дезоксигенация (#), озон (Ψ), дезоксигенация + озон (\$), дезоксигенация + нитроглицерин + озон (Ω)

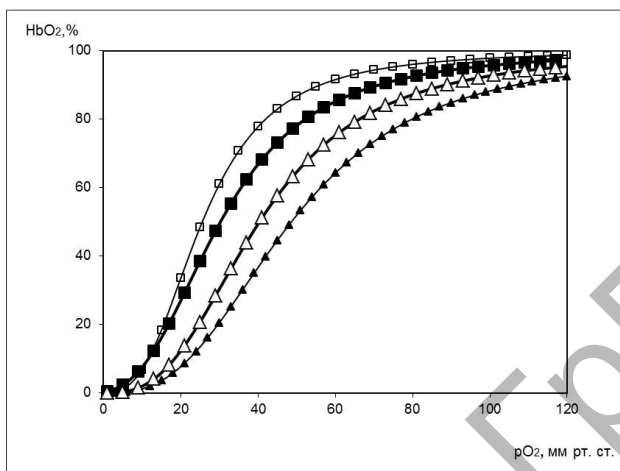


Рисунок 1 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и $p\text{CO}_2$ в гипоксических условиях. Обозначения: $\square$ - контроль; $\blacksquare$ - озон; $\triangle$ - дезоксигенация + озон, $\blacktriangle$ - дезоксигенация + нитроглицерин + озон

Также наблюдается снижение $p50_{\text{станд}}$ на 22,1% ($p < 0,05$). Добавление нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта и характеризуется ростом $p\text{O}_2$, SO_2 , $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$ и сдвигом КДО вправо (рисунок 2), а гидросульфид натрия подобным эффектом не обладает. В группе дезоксигенация наблюдается снижение всех показателей КТФ крови в сравнении с контролем. Параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса представлены в табл. 2. Инкубация крови с озонированным изотоническим раствором хлорида натрия в условиях предварительной дезоксигенации характеризуется снижением содержания ДК, МДА, концентрации α -токоферола, ретинола в плазме в сравнении с группой в которой выполнялось только озонирование, активность каталазы при этом не изменяется. Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия не вызывает значимых изменений данных показателей, за исключением каталазы по

сравнению с аликвотой, в которую вводили озон, предварительно дезоксигенировав. При дезоксигенации не наблюдается изменений параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса в сравнении с контролем.

Содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и H_2S в плазме крови под действием O_3 в условиях дезоксигенации возрастает на 28,57% ($p<0,05$) и на 31,25% ($p<0,05$), соответственно (рисунок 2). Добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в условиях дезоксигенации приводит к ещё более существенному росту $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ на 98,45% ($p<0,05$) и на 17,38% ($p<0,05$), соответственно. Уровень H_2S растёт в группах с нитроглицерином и гидросульфидом натрия на 48,13% ($p<0,05$) и на 90,22% ($p<0,05$), соответственно, в сравнении с группой озонирование в условиях дезоксигенации.

Таблица 2 – Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в гипоксических условиях (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Дезоксигенация	Озон	Дезоксигенация + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
п	10	10	10	10	10	10
МДАэр, мкмоль/л	4,86 [4,25; 5,77]	5,52 [5,39; 5,84]	16,63 [16,04; 17,10]*#	13,36 [11,00; 13,58]*#Ψ	12,75 [12,31; 13,05]*#Ψ	13,59 [10,78; 14,99]*#
ДКэр, ЕД/мл	18,15 [17,34; 18,56]	18,20 [16,99; 21,39]	22,85 [20,20; 26,82]*	18,82 [18,22; 19,63]Ψ	17,39 [15,48; 21,12]Ψ	18,86 [15,84; 22,24]
Каталаза, ммоль H_2O_2 /мин/г Нб	10,56 [10,25; 10,87]	11,18 [10,71; 16,35]	13,98 [13,24; 14,21]*	14,87 [13,85; 16,08]*	15,73 [14,13; 16,57]*Ψ	15,50 [14,48; 17,21]*Ψ

Показатель	Контроль	Дезоксигенация	Озон	Дезоксигенация + озон	Дезоксигенация + нитроглицерин + озон	Дезоксигенация + NaHS + озон
п	10	10	10	10	10	10
Ретинол, мкмоль/л	0,84 [0,81; 0,87]	0,89 [0,86; 0,91]	1,06 [0,95; 1,12]*#	0,83 [0,76; 0,93]Ψ	0,87 [0,77; 0,94]	0,85 [0,74; 0,97]
α-токоферол, мкмоль/л	8,34 [7,95; 8,65]	8,85 [8,17; 10,05]	14,83 [12,72; 17,34]*#	10,72 [10,27; 12,62]*#Ψ	10,76 [10,55; 13,75]*#Ψ	10,94 [10,27; 12,06]*#Ψ

Примечание: изменения в сравнении с группами: контрольной (*), дезоксигенация (#), озон (Ψ), дезоксигенация + озон (\$), дезоксигенация + нитроглицерин + озон (Ω)

При гипоксии наблюдается ухудшение процессов тканевого транкапиллярного обмена кислорода, снижение возможностей микроциркуляторного русла для доставки кислорода в ткани [4]. Выявлены функциональные взаимосвязи различных компонентов регуляции микрогемодинамики и показателей КТФ крови при проведении гипоксического теста [15]. Озон значительно улучшает микроциркуляцию за счёт повышения функциональной активности капилляров, изменения физико-химических характеристик крови и, в частности, кислородсвязывающих свойств крови [19]. Как видим из проведённых опытов отмечаются изменения КТФ крови под влиянием озона в гипоксических условиях и при добавлении доноров газотрансмиттеров. Ранее нами было показано, что инкубация крови с озоном и нитроглицерином (донором NO) приводит к усилению эффекта данного газа на КТФ крови (рост pO_2 , SO_2), что приводит к уменьшению СГК и сопровождается ростом газотрансмиттеров (NO, H_2S) [9]. Данный факт свидетельствует о важной роли NO в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции СГК, действие

которого определяется параметрами кислородного обеспечения. Кроме того, следует обратить внимание, что противогипоксическое действие O_3 реализуется, в том числе, за счет влияния на синтез монооксида азота [8], увеличения концентрации 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах, повышения пластичности мембран красных кровяных клеток и уменьшения вязкости крови [1].

NO обеспечивает адаптацию организма к изменениям pO_2 через влияние на механизмы формирования функционального статуса эритроцитов. Кроме того, данный газотрансмиттер является основным регулятором тонуса сосудов и ангиопротектором, что обуславливает его влияние на локальную микроциркуляцию [4]. Описаны сложные взаимоотношения между O_3 и группой ферментов NO -синтаз, генерирующих образование NO [1]. O_3 может активировать индуцибельную синтазу оксида азота, что приводит к росту концентрации последнего, а также восстанавливает NO_2^- при низких значениях pH [20]. В этих механизмах участвует и другой газотрансмиттер сероводород. Эритроциты продуцируют эндогенный H_2S , используя в качестве субстрата 3-меркаптопируват. Продукция H_2S в красных клетках крови зависит от уровня NO в сыворотке крови [34]. Взаимодействие доноров монооксида азота и сероводорода может иметь значение для модификации сродства гемоглобина к кислороду через образование различных дериватов гемоглобина.

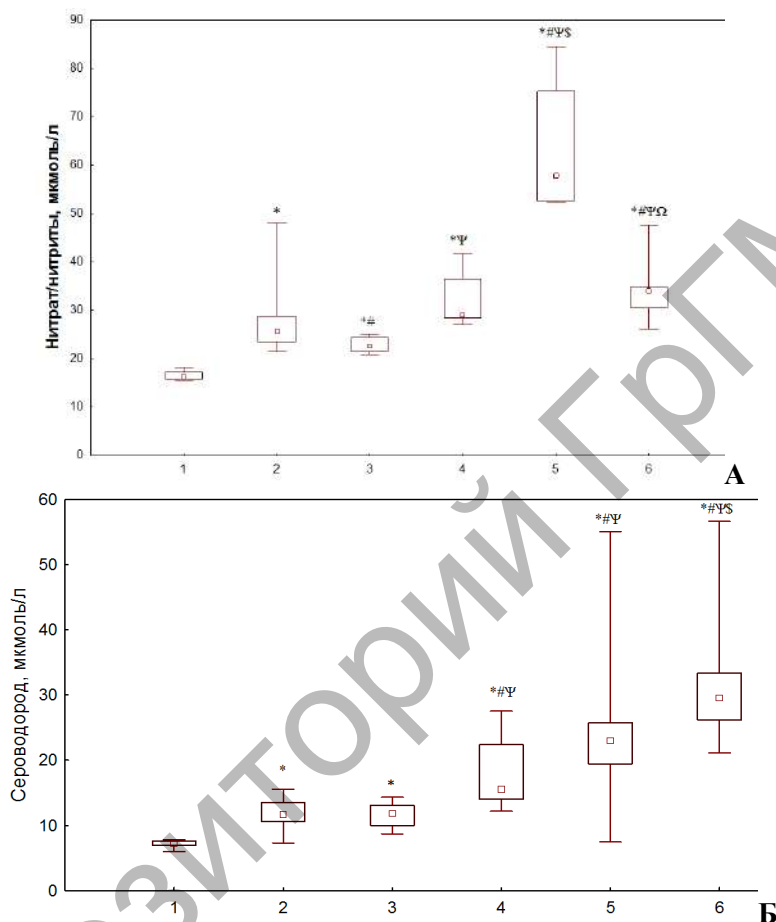


Рисунок 2 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) в плазме крови в гипоксических условиях. Примечание: 1-6 – экспериментальные группы; изменения в сравнении с группами – контрольной (*), дезоксигенация + изотон. р-р (#), озон(Ψ), дезоксигенация + озон (\$), дезоксигенация + нитроглицерин + озон (Ω)

В наших исследованиях показана роль H_2S в эффекте озона на кислородзависимые процессы. H_2S участвует в защите от окислительного стресса, вызванного гипоксией [32]. Наблюдается увеличение данного газотрансмиттера в условиях

дезоксигенации, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия способствует ещё более значительному его росту. В результате действия S-нитрозосоединений происходит трансформация молекул гемоглобина: окисление в их составе железа, нитрозилирование гема и, вероятно, SH-групп, что изменяет свойства гемопroteина, его способность связывать и удерживать кислород [27]. H_2S выполняет и антиоксидантные функции за счет модификаций активности ферментов, в том числе каталазы [29].

Таким образом, предварительная обработка крови дезоксигенирующей газовой смесью уменьшает влияние озона на КТФ крови, что проявляется в снижении pO_2 , SO_2 , $p50$ в сравнении с группой в которую вводили только озон. Введение нитроглицерина препятствует проявлению данного эффекта, а гидросульфид натрия подобного действия не оказывает. Действие озона в данных условиях приводит к росту содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивают эти показатели, что отражает участие данных газотрансмиттеров в модификации КТФ крови. В крови, обработанной дезоксигенирующей газовой смесью при добавлении озона, а также в группе с нитроглицерином наблюдается уменьшение показателей перекисного окисления липидов (МДА, ДК) и антиоксидантной защиты (ретинола и α -токоферола). Полученные результаты демонстрируют влияние озона на КТФ крови и синтез NO, что будет важно для понимания механизмов оксигенации тканей на микроциркуляторном уровне в гипоксических условиях. Однако, представляется необходимым изучение эффектов озона на кислородзависимые процессы в условиях оксигенации.

Озонотерапия имеет множество положительных эффектов, включая стимуляцию метаболизма кислорода и усиление оксигенации тканей. Применение озона (O_3) у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом, вызванным COVID-19, вызывает рост SO_2 и респираторного индекса PaO_2 / FiO_2 [17]. Увеличение парциального давления кислорода приводит к трансформации структуры гемоглобина и

его способности связывания с данным газом [14]. O_3 , действуя как регулирующий агент биологического окислительного стресса, окисляет полиненасыщенные жирные кислоты, восстановленный глутатион и альбумин, что обуславливает образование H_2O_2 и продуктов перекисного окисления липидов [33]. «Контролируемый окислительный стресс», создаваемый данным газом, стимулирует антиоксидантную систему клетки [26]. Эта молекула оказывает влияние на сигнальные пути синтеза монооксида азота (NO) за счёт увеличения экспрессии индуцибельной NO-синтазы. NO является важным фактором в автономной внутриэритроцитарной системе регуляции сродства гемоглобина к кислороду и проявляет своё действие на данный параметр в гипероксических условиях [8]. Однако влияние газотрансмиттеров в условиях предварительной оксигенации при применении озона недостаточно исследовано.

Были изучены вклад газотрансмиттеров (NO , H_2S) в эффект озона на кислородзависимые процессы крови в условиях оксигенации в опытах *in vitro*. На образцах крови, забранных от белых крыс-самцов массой 250-300 г ($n=15$), предварительно содержавшихся в стандартных условиях вивария, проводились эксперименты *in vitro*. Образцы крови ($n=10$) были разделены на 6 аликвот по 3 мл. В группах 2, 4, 5, 6 осуществляли обработку крови оксигенирующей газовой смесью (94,5% O_2 ; 5,5% CO_2) в термостатируемом сатураторе на протяжении 30 минут. К аликвотам добавляли озонированный изотонический раствор хлорида натрия (с концентрацией O_3 6 мг/л) в объёме 1 мл (в 1-ю и 2-ю без озонирования) и 0,1 мл растворов, содержащих газотрансмиттеры (в 5-ю – нитроглицерин в конечной концентрации 0,05 ммоль/л (SchwarzPharma AG), 6-ю – гидросульфид натрия в конечной концентрации 0,38 ммоль/л (Sigma-Aldrich)) и изотонический раствор хлорида натрия (в 1-ю, 2-ю, 3-ю, 4-ю), после чего пробы перемешивали. Время инкубации составляло 60 мин. Изменения показателей КТФ крови в условиях оксигенации представлены в таблице 3. При добавлении озона в кровь, насыщенную оксигенированной газовой смесью, отмечается рост pO_2 на 144,27% ($p<0,05$), SO_2 на 51,42% ($p<0,05$), показателя сродства гемоглобина к кислороду

$p50_{\text{реал}}$ на 30,14% ($p<0,05$) и, соответственно, КДО сдвигается вправо по сравнению группой, в которую вводили только озон (рисунок 3). Также наблюдается увеличение $p50_{\text{станд}}$ на 22,66% ($p<0,05$). Нитроглицерин усиливает эффект данного газа на КТФ крови в заданных условиях, pO_2 и SO_2 увеличиваются на 25,95% ($p<0,05$) и 23,17% ($p<0,05$) соответственно. Показатель $p50_{\text{реал}}$ возрастает на 24,54% ($p<0,05$) и сдвиг КДО вправо становится более выраженным (рисунок 3). Гидросульфид натрия не оказывает подобного эффекта.

Таблица 3 – Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при добавлении доноров газотрансмиттеров в условиях её оксигенации (Me [25; 75])

Показатель	Контроль	Оксигенация	Озон	Оксигенация + озон	Оксигенация + нитроглицерин + озон	Оксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SO_2 , %	30,10 [23,73; 30,18]	44,50 [39,80; 50,50]*	33,35 [30,23; 39,60]*#	50,50 [50,20; 53,30]*Ψ	62,20 [50,50; 65,1] *#Ψ\$	57,05 [51,40; 72,6] *#Ψ
pO_2 , мм рт.ст.	20,85 [20,20; 22,1]	53,25 [49,80; 56,20]*	24,85 [23,53; 26,80]*#	60,70 [58,40; 62,20]*#Ψ	76,45 [75,60; 82,90]*#Ψ\$	67,9 [61,20; 93,0] *#Ψ
pH, ед	7,413 [7,410; 7,422]	7,341 [7,332; 7,363]*	7,431 [7,417; 7,450]#	7,452 [7,373; 7,492]#	7,421 [7,332; 7,471]	7,422 [7,321; 7,442]
pCO_2 , мм рт.ст.	34,15 [30,28; 37,20]	44,80 [42,78; 46,03]*	27,90 [26,43; 29,85]*#	40,50 [34,68; 42,55]*#Ψ	40,40 [38,30; 46,60]*Ψ	41,80 [40,80; 44,00] *Ψ
HCO_3^- , ммоль/л	21,9 [20,88; 22,73]	23,70 [23,13; 24,08]*	20,80 [20,73; 22,33]#	20,60 [20,24; 21,48]#	17,95 [15,58; 20,48]*##	19,80 [19,05; 20,40]*##
TCO_2 , ммоль/л	21,75 [21,53; 22,88]	25,30 [24,98; 26,50]*	20,7 [20,03; 21,85]*#	21,65 [20,48; 22,73]#	20,25 [20,10; 20,70]*##	20,90 [20,80; 22]#Ω
ABE, ммоль/л	-3,3 [-4,65; - 2,35]	-2,40 [-3,20; -1,85]	-4,05 [-4,80; - 2,60]	-4,90 [-5,48; -3,23]#	-5,65 [-6,15; -3,98]#	-5,70 [-6,98; -3,25]#
SBE, ммоль/л	-1,65 [-2,55; - 1,33]	-1,15 [-2,85; -0,28]	-3,05 [-3,48; - 1,78]	-3,65 [-4,30; -2,28]*#	-5,20 [-5,80; - 4,65]*#Ψ\$	-5,50 [-6,40; -2,93]*#

Показатель	Контроль	Оксигенация	Озон	Оксигенация + озон	Оксигенация + нитроглицерин + озон	Оксигенация + NaHS + озон
n	10	10	10	10	10	10
SBC, ммоль/л	21,8 [20,48; 23,3]	22,90 [22,13; 23,68]	21,60 [21,28; 22,68]	20,77 [20,43; 21,40]#	19,15 [18,95; 19,93]*#Ψ\$	20,55 [19,40; 21,95]#
p50 _{реал} , мм рт.ст.	26,44 [25,65; 27,44]	35,04 [32,38; 52,60]*	30,99 [28,05; 37,20]*	40,33 [34,05; 46,61]*Ψ	50,19 [41,24; 54,15]*#Ψ\$	41,63 [36,31;46,45]*Ψ
p50 _{станд} , мм рт.ст.	26,5 [26,43; 26,7]	31,80 [29,70; 34,80]*	31,55 [26,75; 36,28]*	38,7 [30,50; 40,60]*#Ψ	47,7 [41,50; 52,90]*#Ψ\$	37,6 [33,80; 41,10]*#ΨΩ

Примечание: достоверные изменения в сравнении с группами: контрольной (*), оксигенация (#), озон (Ψ), оксигенация + озон (\$), оксигенация + нитроглицерин + озон (Ω)

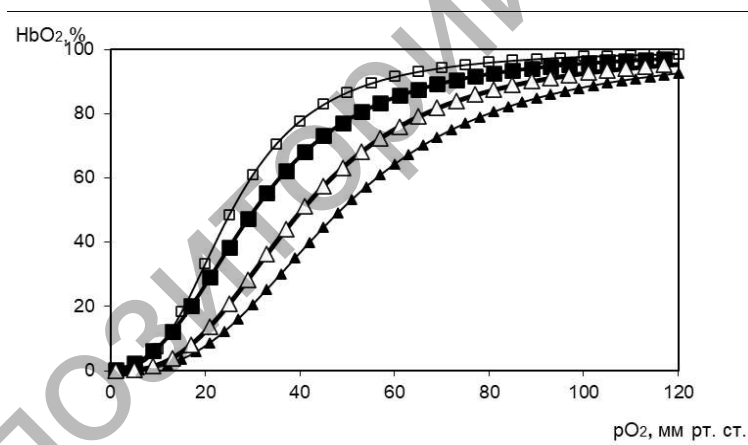


Рисунок 3 – Эффект озона на положение кривой диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH и pCO₂ в условиях сатурации крови оксигенирующей газовой смесью. Обозначения: □ - контроль; ■ - озон; Δ - оксигенация + озон, ▲ - оксигенация + озон + нитроглицерин

При добавлении озона в условиях предварительной оксигенации крови наблюдается рост МДА в эритроцитах, а показатели антиоксидантной защиты не изменяются в сравнении с группой озонирование без оксигенации (таблица 4).

Таблица 4 – Эффект озона на показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса крови при добавлении доноров газотрансммиттеров в условиях её оксигенации (Ме [25; 75])

Показатель	Контроль	Оксигенация	Озон	Оксигенация + озон	Оксигенация + нитроглицерин + озон	Оксигенация + NaHS + озон
п	10	10	10	10	10	10
МДАэр, мкмоль/л	5,13 [4,08; 6,11]	16,15 [13,88; 16,76]*	15,92 [13,15; 17,76]*	19,26 [18,26; 23,09]*#Ψ	24,52 [17,30; 24,93]*#Ψ\$	22,03 [18,55; 26,31]*#Ψ
ДКэр, ЕД/мл	18,48 [17,10; 20,25]	24,48 [21,39; 25,78]*	23,10 [20,13; 24,51]*	27,46 [24,16; 28,60]*#	32,86 [29,56; 37,51]*#Ψ\$	30,88 [24,57; 34,90]*#Ψ
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г Нб	11,03 [10,76; 11,82]	13,77 [13,06; 18,26]*	14,46 [13,77; 15,47]*	17,04 [12,57; 20,87]*	23,87 [20,25; 29,89]*#Ψ\$	22,57 [20,92; 24,44]*#Ψ\$
Ретинол, мкмоль/л	0,82 [0,63; 0,91]	1,13 [0,88; 1,19]*	1,09 [0,88; 1,18]*	1,03 [0,80; 1,10]*	1,17 [0,71; 1,11]*	1,11 [0,70; 1,01]*
α-токоферол, мкмоль/л	8,08 [7,05; 10,16]	15,23 [11,52; 19,27]*	14,95 [8,75; 21,41]*	14,26 [11,37; 17,68]*	15,07 [12,07; 17,21]*	15,30 [13,88; 19,16]*

Примечание: достоверные изменения в сравнении с группами: контрольной (*), оксигенация (#), озон (Ψ), оксигенация + озон (\$), оксигенация + нитроглицерин + озон (Ω)

В группе с нитроглицерином при этом содержание ДК, МДА в эритроцитарной массе растёт. Гидросульфид натрия и нитроглицерин в этих условиях приводят к увеличению активности каталазы по сравнению с аликвотой, в которую вводили озон и предварительно оксигенировали. В условиях предварительной оксигенации под действием O_3 содержание NO_3^-/NO_2^- и H_2S в плазме крови возрастает на 24,73% ($p<0,05$) и на 38,11% ($p<0,05$) соответственно (рис. 4) по сравнению с группой, в которую вводили только озон.

Добавление нитроглицерина в условиях оксигенации приводит к увеличению содержания NO_3^-/NO_2^- на 97,9% ($p<0,05$) и H_2S на 59,99% ($p<0,05$) в сравнении с группой озонирования с предварительной оксигенацией. Схожая динамика этих показателей наблюдается и в группе с гидросульфидом натрия. В наших опытах отмечается участие газотрансмиттеров в изменении КТФ крови при воздействии озоном в условиях оксигенации (рост pO_2 , SO_2 , $p50_{\text{реал}}$). Эритроциты за счёт экспрессии каталитически активной синтазы монооксида азота (NOS3 типа 1), которая идентична экспрессируемой в эндотелии, индуцируют синтез NO [22]. Эта субстанция является мощным митохондриальным регулятором, снижая сродство к кислороду цитохром-с-оксидазы, терминального акцептора электронов митохондриальной цепи транспорта электронов [28]. Как видим из проведённых нами исследований, нитроглицерин и гидросульфид натрия приводят к увеличению содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S . Эритроциты участвуют в поддержании кислородзависимого баланса между образованием и окислением H_2S за счёт своей способности генерировать данный газотрансмиттер [25].

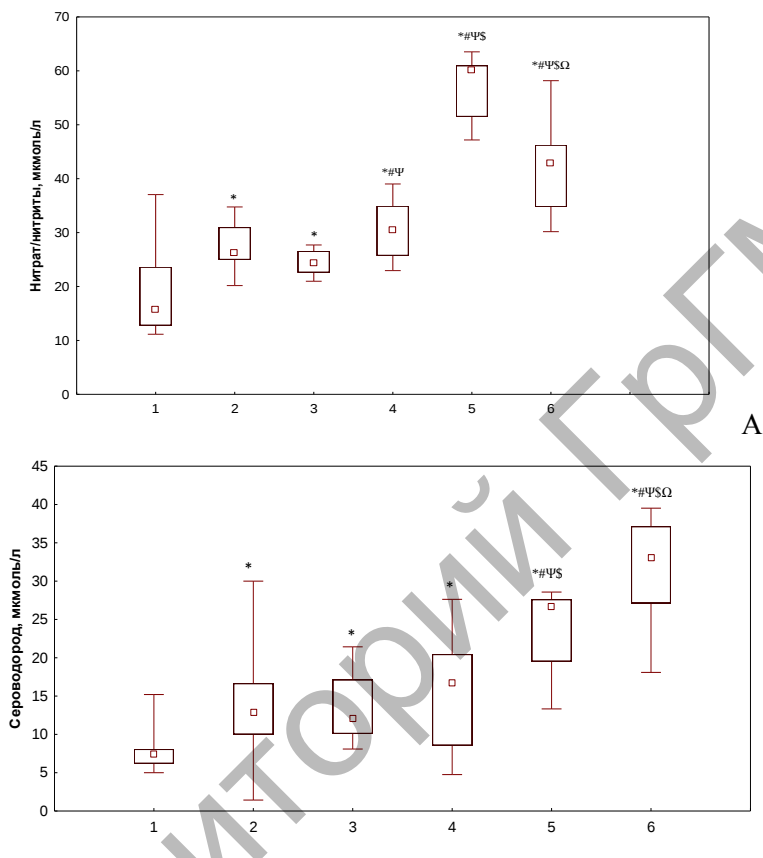


Рисунок 4 – Концентрация нитрат/нитритов (А) и сероводорода (Б) в плазме крови в условиях оксигенации. Примечание – достоверные изменения в сравнении с группами контрольной (*), оксигенация + изотон. р-р (#), озон(Ψ), оксигенация + озон (\$); оксигенация + нитроглицерин + озон (Ω)

Озон может оказывать, как про-, так и антиоксидантный эффект в зависимости от используемых концентраций. Так в образцах крови, подвергнутых воздействию O_3 в дозе 160 мг/мл, наблюдается рост МДА [18], а у пациентов с бессонницей и ишемической болезнью сердца озонотерапия способствует росту каталазы [23]. В наших опытах в условиях оксигенации

при воздействии озона и добавлении нитроглицерина наблюдается рост МДА и ДК, а гидросульфид натрия подобного эффекта не оказывает. Изоформы NO рассматривают как динамические датчики клеточного окислительного стресса и регуляторы редокс-гомеостаза. Механизм положительного влияния озонотерапии проявляется в повышении активности антиоксидантных ферментов сыворотки крови [12]. В нашем эксперименте добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в условиях оксигенации приводит к росту активности каталазы.

Предварительная оксигенация усиливает влияние озона на КТФ крови, проявляющееся в росте таких показателей, как pO_2 , SO_2 , $p50_{\text{реал}}$ и $p50_{\text{станд}}$. Добавление гидросульфида натрия и нитроглицерина увеличивает данный эффект, особенно последнего. В гипероксических условиях действие озона приводит к росту NO_3^-/NO_2^- и H_2S , а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия существенно увеличивают эти показатели, что отражает вклад данных газотрансмиттеров в модификацию КТФ крови. Предварительная оксигенация существенно не влияет на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса, а добавление нитроглицерина и гидросульфида натрия в данных условиях способствует увеличению уровней ДК, МДА, активности каталазы.

Таким образом, анализ полученных результатов исследований указывает на то, что озон оказывает влияние на кислородсвязывающие свойства крови в различных условиях кислородного обеспечения, а нитроглицерин (прямой донор монооксида азота) приводит к ещё более выраженному увеличению данного эффекта за счёт внутриэритроцитарных механизмов регуляции.

Финансирование осуществляется в рамках международного научного проекта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Российского фонда фундаментальных исследований «БРФФИ–РФФИ-2020» (№ М20Р-428 – БРФФИ) и (№ 20-515-00019-РФФИ).

Библиографический список

1. Абулдинов А.С. Особенности кислородтранспортной функции крови у беременных с внебольничной пневмонией (обзор литературы) // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2020. – № 75. – С. 126–136.
2. Балмагамбетова С. К. Применение озоновых технологий в акушерстве и гинекологии // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2011. – Т. 29, № 1. – С. 19–26.
3. Лапшина О.В. и др. Влияние озонотерапии на окислительный гомеостаз пациентов с миастенией // Практическая медицина. – 2017. – Т. 2, № 1. – С. 80–83.
4. Глазачев О.С., Дудник О.С. Особенности реактивности сосудов микроциркуляторного русла практически здоровых людей при моделировании острой умеренной гипоксии и гипероксии // Физиология человека. – 2013. – Т. 39. – № 4. – С.400–406.
5. Гречканев Г.О., Конторщикова К.Н., Качалина Т.С. Экспериментальное обоснование озонотерапии акушерских осложнений // Нижегородский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С. 20–25.
6. Долганова Т.И., Шихалева Н.Г., Щудло Н.А. Динамика парциального давления газов и микроциркуляции в коже несвободных кожно-фасциальных лоскутов с осевым кровоснабжением после их транспозиции // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, №4. – С.18–22.
7. Зинчук В.В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород // Успехи физиологических наук. – 2021. – Т. 52, № 3. – С. 21–35.
8. Зинчук В.В. Степура Т.Л. Модификация оксидом азота средства гемоглобина к кислороду в различных условиях кислородного режима // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99, № 1. – С. 111–119.
9. Зинчук В.В., Билецкая Е.С. Эффект озона на кислородтранспортную функцию крови при различных режимах

воздействия в опытах *in vitro* // Биофизика. – 2020. – Т.65, № 5. – С. 915–919.

10. Ковальчук Л. С. Опыт применения различных методик озонотерапии в лечении осложнений сахарного диабета // Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – Т. 12, № 2. – С. 120–123.

11. Микашинович З.И., Логинов И.А., Борщева А.А. Эффективность озонотерапии в реабилитации новорожденных после перенесенной внутриутробной гипоксии // Кубанский Научный Медицинский Вестник. – 2017. – Т. 24, № 5. – 45–49.

12. Осиков М.В., Давыдова Е.В., Абрамов К.С. Процессы свободнорадикального окисления и перспективные направления коррекции редокс-статуса при изолированных переломах бедренной кости // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 1. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28605>

13. Плетнёв А.А., Михайлова Л.И. Влияние озонотерапии на функциональное состояние хоккеистов в соревновательном периоде // Вестник ЮУрГУ. – 2007. – № 16. – С. 105–107.

14. Подоксенов Ю.К., Каменщиков Н.О., Мандель И.А. Применение оксида азота для защиты миокарда при ишемической болезни сердца // Анестезиология и реаниматология. – 2019. – № 2. – С. 34–47.

15. Сабиров И.С., Мамедова К.М., Султанова М.С. и др. Роль и значение гипоксического компонента в развитии осложнений новой коронавирусной инфекции (COVID-19) // The Scientific Heritage. – 2021. – № 62. – С. 21–28.

16. Clavo B., Santana-Rodríguez N., Llontop P. et al. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted? // Evid Based Complement Alternat Med. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1–11.

17. Franzini M. et al. Oxygen-ozone (O_2 – O_3) immunocutical therapy for patients with COVID–19. Preliminary evidence reported // Int Immunopharmacol. – 2020. – Vol. 88. – P. 1–6.

18. Gao T. et al. Melatonin alleviates oxidative stress in sleep deprived mice: Involvement of small intestinal mucosa injury // Int. Immunopharmacol. – 2020. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.106041.

19. He S., Chen W., Xia J. et al. Effects of ozone autohemotherapy on blood VEGF, TGF- β and PDGF levels after finger replantation // *Ann Palliat Med.* – 2020. – Vol. 9, № 5. – P. 3332–3339.

20. Jaitovich A, Jourdeuil D. A Brief Overview of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Signaling in Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension // *Adv Exp Med Biol.* – 2017; Vol. 967. – P. 71–81.

21. Joubert J., Malan S.F. Novel nitric oxide synthase inhibitors: a patent review // *Expert Opin Ther Pat.* – 2011. – Vol. 21, № 4. – P.537–560.

22. Kuhn V. et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia // *Antioxid Redox Signal.* – 2017. – Vol. 26, № 13. – P.718–742.

23. Li Y. et al. Низкодозовая озонотерапия улучшает качество сна у пациентов с бессонницей и ИБС путём повышения уровней BDNF и ГАМК в сыворотке крови // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2020. – Т.170, № 10. – С. 508–514.

24. Marinko M. et al. Mechanisms underlying the vasorelaxant effect of hydrogen sulfide on human saphenous vein // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 35, № 5. – P.906–918.

25. Olson K.R. et al. Catalase as a sulfide-sulfur oxidoreductase: an ancient (and modern?) regulator of reactive sulfur species (RSS) // *Redox Biol.* – 2017. – Vol. 12. – P. 325–339.

26. Ranaldi G.T., Villani E.R., Franza L. Rationale for ozone-therapy as an adjuvant therapy in COVID-19: a narrative review // *Med. Gas Res.* – 2020. – Vol.10, № 3. – P.134–138.

27. Rifkind J.M., Salgado M.T., Cao Z. Regulation of oxygen delivery by the reaction of nitrite with RBCs under hypoxic conditions // *Adv Exp Med Biol.* – 2012. – Vol. 737. – P. 183–189.

28. Strahl J., Abele D. Nitric oxide mediates metabolic functions in the bivalve *Arctica islandica* under hypoxia // *PLoS One.* – 2020. V– Vol. № 5. – P. 1–19.

29. Tabassum R, Jeong NY. Potential for therapeutic use of hydrogen sulfide in oxidative stress-induced neurodegenerative diseases // *Int. J. Med. Sci.* – 2019. – Vol. 16, № 10. – P. 138–1396.

30. Orakdogan M. The Effect of Ozone Therapy on Experimental Vasospasm in the Rat Femoral Artery // Turk. Neurosurg. – 2016. – Vol. 26, № 6. – P. 860–865.

31. Wang W.J., Zhan Y., Zhang D.Y. Research progress in treatment and nursing of vascular crisis after replantation of severed finger // J of Traumatic Surgery. – 2016. – Vol. 18. – P. 572–574.

32. Wu J., Pan W., Wang C. et al. H₂S attenuates endoplasmic reticulum stress in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension // Biosci Rep. – 2019. – Vol. 39, № 7. – P. 1–13.

33. Yilmaz O. et al. The effects of systemic ozone application and hyperbaric oxygen therapy on knee osteoarthritis: an experimental study in rats // Int Orthop. 2021. – Vol. 45, № 2. – P. 489–496.

34. Zheng M., Zeng Q., Shi X.Q. et al. Erythrocytic or serum hydrogen sulfide association with hypertension development in untreated essential hypertension // Chin. Med. J. (Engl). – 2011. – Vol. 124, № 22. – P. 3693–3701.

35. Перов С.П., Хргиан А.Х. Современные проблемы атмосферного озона. – Л.: Гидрометеиздат, 1980. – 288 с.

36. Макаров И.В. и др. Способ коррекции липидного профиля у пожилых пациентов с облитерирующим атеросклерозом 2-ой стадии // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2015. – № 1-2. – С. 20–25.

37. Дерюгина А.В. и др. Экспериментальное обоснование использования озона в трансфузионной терапии кровопотери у крыс // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2017. – № 1. – С. 41–45.

Глава 3. Эритроцитарная L-аргинин-NO-система при различных значениях парциального давления кислорода

Н.В. Акулич, В.В. Зинчук

УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория» а/г

Лесной, akulich_n@antidoping.by;

Гродненский государственный медицинский университет,
zinchuk@grsmu.by

Гипоксические состояния представляют собой не только универсальный патологический процесс, возникающий в результате недостаточного снабжения тканей кислородом или нарушения использования его тканями, но и является состоянием, сопровождающим процесс адаптации к условиям высокогорья, а также характерны для спортсменов при тренировочных нагрузках, т.е. является предметом изучения физиологии. Так, в спортивной практике нашло применение использование интервальных тренировок, когда эпизоды гипоксии приводят к адаптационным изменениям, повышая устойчивость организма как к гипоксическим состояниям [1]. Признаки гипоксии отмечаются у здоровых людей в связи со специфическими условиями их профессиональной деятельности. В большинстве работ, посвященных оценке влияния гипоксии, используются ее экспериментальные модели на уровне целого организма. Однако для изучения клеточных и/или молекулярных механизмов возникающих изменений необходимо проведение исследований на уровне отдельных клеток. В качестве оптимального объекта для изучения эффектов гипоксии *in vitro* могут быть выбраны эритроциты (RBC) периферической крови млекопитающих, которые являются терминально дифференцированными клетками, основная функция которых – транспорт газов [9]. В изучении механизмов адаптации к гипоксическим состояниям в последнее время активно исследуется роль газотрансмиттера монооксида азота (NO), который обладает рядом уникальных физико-химических свойств. Так, в результате взаимодействия NO и гемоглобина происходит образование его различных форм, которые играют роль аллостерического регулятора

функциональной активности гемопroteина [4]. Локализация NO-синтазы в эритроцитах остается предметом изучения до настоящего времени. Так, иммунологическими методами в эритроцитах человека был обнаружен белок, содержащий эпитопы NO-синтазы [9]. Однако имеются и противоположные данные [5] свидетельствующие об отсутствии изменений уровня нитритов и нитратов в цитозоле красных кровяных телец после добавления L-[$^{15}\text{N}_2$]-Arg. Новые данные, опубликованные в работе [2] показали, что NO-синтаза эндотелиоцитов и красных кровяных телец обеспечивают поддержание постоянства артериального давления. Как известно, в механизмах адаптации к изменяющимся условиям внутренней и внешней среды, ведущим к развитию гипоксии, важная роль принадлежит кислородтранспортной функции крови и, в частности, сродству гемоглобина к кислороду. Представляется важным выяснить роль L-аргинин-NO- системы эритроцитов в адаптации к гипо-/гипероксии. В частности, требуется уточнить динамику образования как NO, так и связанных с ним различных типов гемоглобина, влияющих на сродство гемоглобина к кислороду. Исходя из этого, представляется важным изучение функционирования L-аргинин-NO-системы эритроцитов при различных значениях парциального давления кислорода.

Для создания различных значений содержания кислорода в атмосфере (1, 4, 7 и 12% O_2) использовали перчаточный бокс, подключенный к генератору азота и баллону с углекислым газом (концентрация CO_2 была постоянной и составляла 4,7-5,3%), в котором проводили исследования *in vitro*. Дополнительно планшетный спектрофлуориметр был укомплектован модулем поддержания концентрации газов (BioTek, Gas Controller), который в режиме реального времени автоматически поддерживал заданные значения газов (O_2 и CO_2). Использование CO_2 -инкубаторов с традиционной схемой подачи газов (без модуля кислорода) имеет ограниченное применение, поскольку клетки подвергаются воздействию кислорода атмосферного воздуха, концентрация которого обычно составляет 20-21%. Вместе с тем, для подавляющего большинства типов клеток, и в большей степени для клеточных

органелл, нормальное протекание процессов жизнедеятельности (физиологический уровень) происходит при других, меньших значениях pO_2 , и гипероксия в условиях *in vitro* и *in vivo*, приводит к увеличению образования активных форм кислорода, которые могут повреждать ДНК [2].

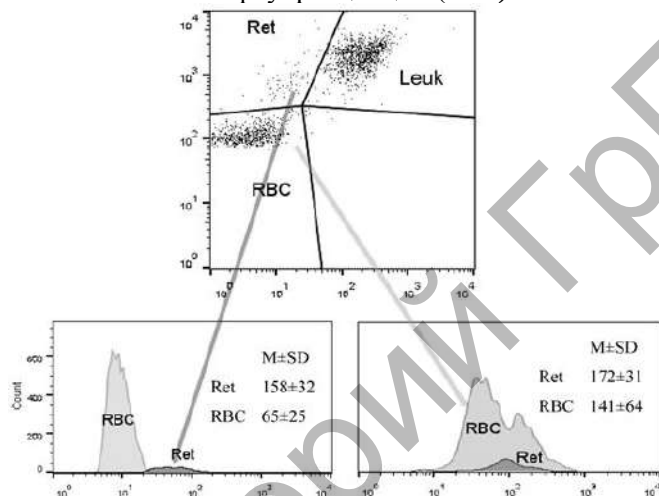
В альвеолярном воздухе содержится 13,5% кислорода; в периферических тканях процентное содержание кислорода значительно ниже, и составляет от 3,4 до 6,8% [1]. Эритроциты млекопитающих, и в частности клетки *Homo Sapiens* имеют более широкий физиологический диапазон содержания кислорода, в котором они нормально функционируют: при этом артериальная и венозная кровь характеризуются различным уровнем pO_2 .

Для оценки L-аргинин-NO-системы эритроцитов в суспензию клеток вносили молсидомин (IPOSHEM) в количестве 2 мМ – 1-я группа ($n = 16$) и неселективный ингибитор фермента NO-синтазы L-NAME в количестве 4 мМ (Sigma-Aldrich) – 2-я группа ($n = 17$). Контролем служила кровь без добавления донора NO или ингибитора фермента NO-синтазы ($n = 16$).

Для морфоденситометрического анализа фиксированных и окрашенных эозином и метиленовым синим препаратов создавали архив изображений не менее 400 эритроцитов с разных участков мазка. В исследовании применяли микроскоп Olympus BX-53 (Olympus) и монохроматический фильтр с длиной волны 540 нм. Микроскопический анализ изображения, применяемый в исследовании, позволяет количественно оценить денситометрические параметры красных кровяных телец. Для оценки площади поверхности эритроцитов применялись алгоритмы программного обеспечения «Диаморф-ЦИТО» (Диаморф). Определения внутриклеточного NO проводили методом проточной цитометрии (FACS ARIA) и спектрофлуориметрии (Biotek, Synergy H1). Инкубирование проб осуществляли при температуре 37°C и постоянном автоматическом перемешивании. Для гейтирования эритроцитов пробы крови окрашивались моноклональными антителами к линейному маркеру эритроцитов (гликофору А, CD 235 а), для оценки NO использовали диацетильное производное 4-

амино-5-метиламино-2',7'-дифторфлуоресцеина (DAF-FM DA) (Molecular Probes). Уровень внутриклеточного содержания NO коррелирует с флуоресценцией DAF-FM [10]. Расчет фракции оксигемоглобина суспензии эритроцитов производили по формуле [15]: $[HbO_2] = 29.8 \times A577 - 9.8 \times A630 - 22.2 \times A560$, где A577, A630 и A560 – значения поглощения при соответствующих длинах волн. Проверку правильности произведенных измерений и подсчетов осуществляли при параллельном измерении спектров поглощения и оценки фракций гемоглобина на газоанализаторе ABL 800 Flex (Radiometer). На первом этапе были проведены кинетические исследования внутриклеточного содержания NO в условиях 20.9 %-ного кислорода (атмосфера лабораторного помещения). Анализ внутриклеточного содержания монооксида азота был начат с корректного выделения клеток, являющихся предметом исследования. Для этого использовали последовательное «логическое гейтирование» с применением CD 45 и полиметина. Эритроциты и ретикулоциты не имели флуоресценции хлорангидрид сульфородамина. Дальний ход анализа представлен на рисунке 1. В верхней части рисунка содержится регион, обозначенный Leuk, который характеризуется наличием ДНК/РНК в цитоплазме (окрашиваются полиметином) клеток и содержанием панлейкоцитарного рецептора CD 45 на мембране, а эритроциты (RBC) и ретикулоциты (Ret) такого рецептора не имеют. В свою очередь ретикулоциты содержат остатки РНК и окрашиваются полиметином. Красные кровяные тельца расположены на той области графика, где находятся клетки, не окрашенные ни одним из красителей. На нижней части рисунка представлены пример гистограммы распределения клеток с использованием логарифмической шкалы и статистические данные, касающиеся средней интенсивности (M) и среднеквадратического отклонения (SD) флуоресценции DAF-FM. Этот краситель позволяет оценивать только внутриклеточный NO, поскольку его флуоресцентная форма образуется под действием внутриклеточных эстераз. Абсолютное количество ретикулоцитов на протяжении всего периода наблюдения практически не изменялось, а количество

ретикулоцитов с низким уровнем флуоресценции, которые являются зрелыми формами эритроцитарных предшественников, нарастало. Уровень внутриклеточного монооксида азота в эритроцитах свежесобранной крови был значительно ниже и составил 65 ± 25 относительных единиц средней интенсивности флуоресценции (MFI).



флуоресценция DAF-FM в свежесобранной крови (n=12) флуоресценция DAF-FM в хранившейся крови (n=12)

Рисунок 1 – Тактика гейтирования ретикулоцитов и эритроцитов, внутриклеточное содержание ДНК/РНК (ось Y) и наличие рецепторов лейкоцитов (ось X)

При хранении крови различия в MFI DAF-FM между ретикулоцитами и эритроцитами практически нивелировались, а ее уровень составил 172 и 141 относительных единиц DAF-FM, соответственно. Обращает на себя внимание как значение среднеквадратического отклонения (SD) флуоресценции DAF-FM эритроцитов (64 единицы MFI), так и появление второго пика на гистограмме распределения эритроцитов. Это свидетельствует об увеличении гетерогенности эритроцитов по содержанию монооксида азота, причем доля клеток с высокими значениями этого параметра при хранении крови увеличивается,

что и является причиной появления второго пика. Важно отметить, что в популяции ретикулоцитов таких изменений зарегистрировано не было. Отличия в содержании монооксида азота между эритроцитами и их предшественниками свежееотобранной крови, на наш взгляд, связано с различным парциальным давлением кислорода в зоне эритропоза и периферическими венами, меньшим временем их пребывания в кровеносном русле после выхода из костного мозга, причем юные формы ретикулоцитов характеризуются меньшими значениями флуоресценции DAF-FM.

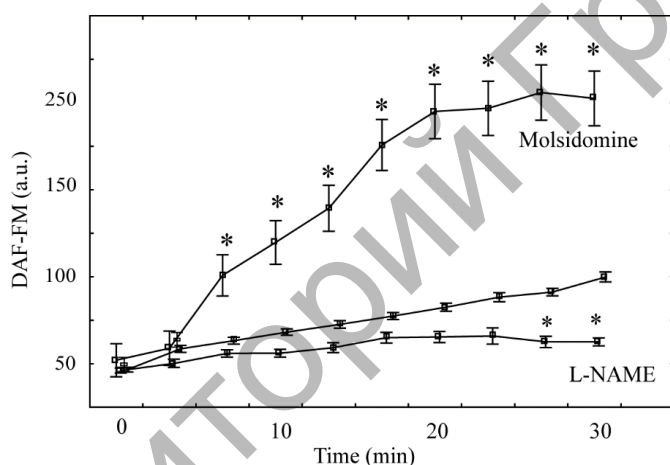


Рисунок 2 – Кинетика флуоресценции DAF-FM при аппликации молсидомина и L-NAME к суспензии эритроцитов (Mean $\pm$ SD)

Примечание: * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, Two-way ANOVA)

В группе контроля (рисунок 2) отмечен незначительный прирост уровня флуоресценции DAF-FM к 30-й минуте наблюдения ($p < 0,05$). Применение L-NAME не оказывало влияния на уровень NO клеток: флуоресценция DAF-FM на протяжении всего эксперимента не изменялась.

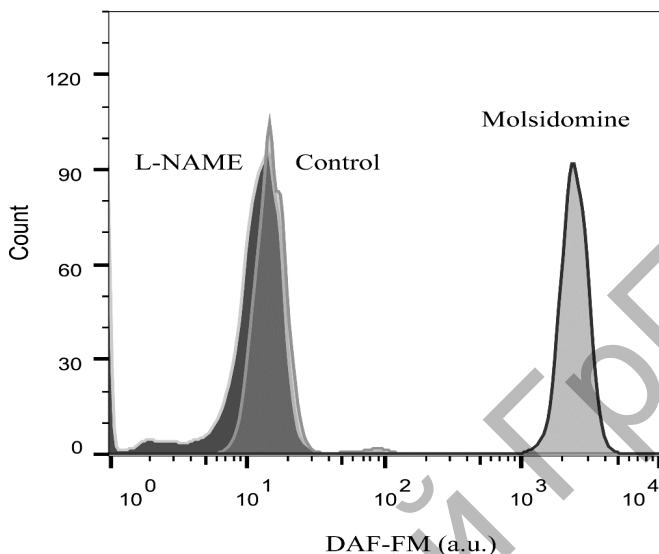


Рисунок 3 – Интенсивность флуоресценции DAF-FM на 30-й минуте наблюдения кинетических исследований при аппликации молсидомина и L-NAME к суспензии эритроцитов

Примечание: * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, Two-way ANOVA).

Молсидомин вызывал быстрый рост внутриклеточной флуоресценции DAF-FM, которая достигала максимума к 23-й минуте наблюдения, затем до 30-й минуты оставалась на этом уровне. Рост флуоресценции (рисунок 3) при аппликации молсидомина (в большей степени) сопровождался увеличением значения малоуглового рассеяния света, что коррелирует с размерами цитометрических объектов (эритроцитов) [3].

Анализ уровня NO суспензии эритроцитов, измеренный по интенсивности флуоресценции DAF-FM, без внесения доноров и ингибиторов NO (группа контроля) показал, что величина NO зависит как от содержания кислорода, так и от времени инкубации (рисунок 4).

Так, зафиксирован рост содержания NO, начиная с 30 мин инкубации. Концентрация кислорода по-разному влияла на содержание газотрансммиттера. В частности, инкубация крови в

условиях 12%-ного содержания кислорода в перчаточном боксе сопровождалась достоверным ростом NO через 60 и 90 мин наблюдения. 30- минутная инкубация не вызывала изменений флуоресценции DAF-FM.

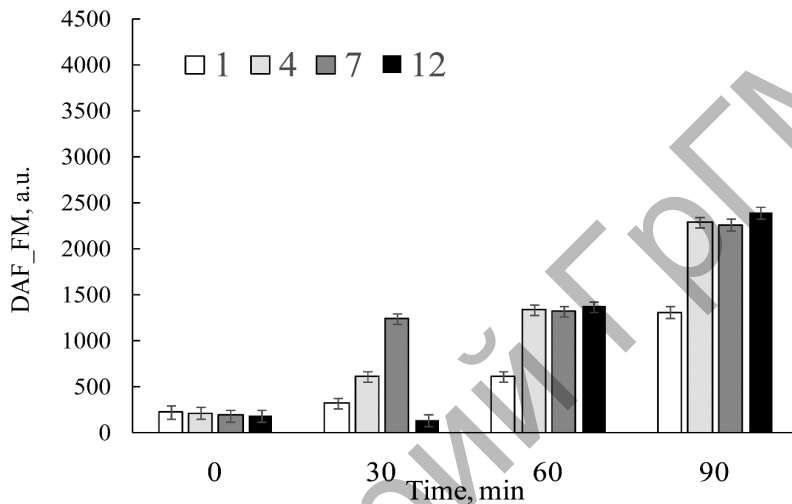


Рисунок 4 – Интенсивность флуоресценции DAF-FM эритроцитов человека при различном содержании кислорода (Mean $\pm$ SD) и парные сравнения групп, различающихся концентрацией кислорода (левая часть) и временем инкубации (правая часть). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Анализ спектров поглощения крови показал (рисунок 5), что при этом уровне содержания кислорода в атмосфере бокса (12%) только 60- и 90-минутная инкубация приводила к изменению фракций гемоглобина. Для HbO₂ выросла с $32,4 \pm 1,2$ до $40,9 \pm 1,6$ и $42,2 \pm 2,2$ % соответственно.

В группе контроля инкубация крови в условиях 7%-ного содержания кислорода в атмосфере привела практически к 10-кратному (со $201,4 \pm 24,1$ до $1235,6 \pm 113,6$ и $1323,0 \pm 116,4$ о.е.) повышению интенсивности флуоресценции DAF-FM эритроцитов через 30 и 60 мин и 20-кратному ($2261,12 \pm 197,0$) – через 90 мин инкубации соответственно. Зарегистрированы

изменения спектра поглощения крови, отражающие долю оксигемоглобина крови, на 90-й мин инкубации. При 4%-ном содержании кислорода в эритроцитах группы контроля также зарегистрирован статистически значимый прирост содержания NO в клетках. Интенсивность DAF-FM эритроцитов на 30-й, 60-й и 90-й мин составляла $612,3 \pm 34,4$; $1330,3 \pm 53,6$ и $2288,8 \pm 110,9$ о.е. соответственно. На 90-й мин наблюдения выявлены изменения доли оксигемоглобина крови при 4%-ном содержании кислорода. Наименьшее содержание O_2 в газовой среде (1%) характеризовалось ростом ($p < 0,05$) NO эритроцитов (до $1309,8 \pm 113,7$) только через 90 мин наблюдения. Максимально низкое значение кислорода в исследовании вызывало снижение HbO_2 , рост дезоксигемоглобина эритроцитах. Доля оксигемоглобина при 1%-ном содержании O_2 в атмосфере бокса постепенно снижалась с $32,3 \pm 0,5\%$ до $29,2 \pm 0,2\%$ к 90-й мин наблюдения.

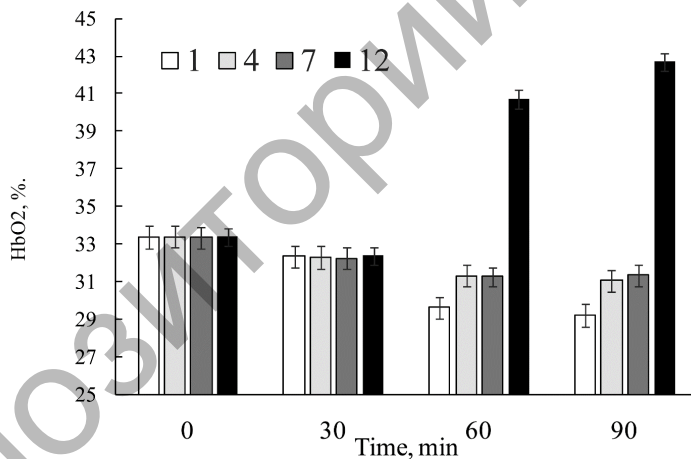


Рисунок 5 – Фракция $HbO_2\%$ эритроцитов человека при различном содержании кислорода (Mean $\pm$ SD).

Донор NO молсидомин вызывал рост флуоресценции DAF-FM в зависимости от всех выбранных нами концентраций кислорода газовой среды (рисунок 6). Следует отметить, что наибольший рост флуоресценции зонда отмечался при 1- и 7%-

ных концентрациях O_2 на 90-й мин наблюдения, а наименьший – при 4%-ном концентрации кислорода в газовой смеси.

К особенностям, выявленным в ходе наблюдения, следует отнести прямо пропорциональную зависимость флуоресценции DAF-FM от времени наблюдения, а также нелинейный характер зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации кислорода в газовой смеси.

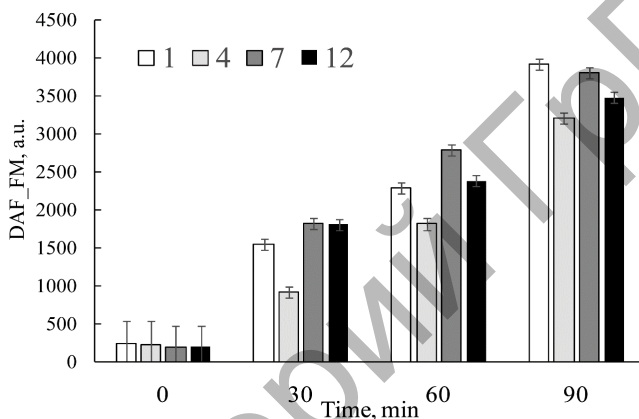


Рисунок 6 – Интенсивность флуоресценции DAF-FM эритроцитов человека при аппликации молсидомина ($Mean \pm SD$) и парные сравнения групп, различающихся концентрацией кислорода (левая часть) и временем инкубации (правая часть). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Анализ спектров поглощения крови показал (рисунок 7), что только при 12%-ном содержании кислорода в атмосфере доля HbO_2 вырастала до $42,9 \pm 1,3$ и $43,8 \pm 0,6$ % соответственно к 60-й и 90-й мин инкубации. Минимальные содержания кислорода газовой смеси (1 и 4%) сопровождалось снижением доли оксигемоглобина до 27,6 и 28,1 % соответственно. Фракция дезоксигемоглобина при 1%-ном содержании кислорода возрастала на всем периоде наблюдения.

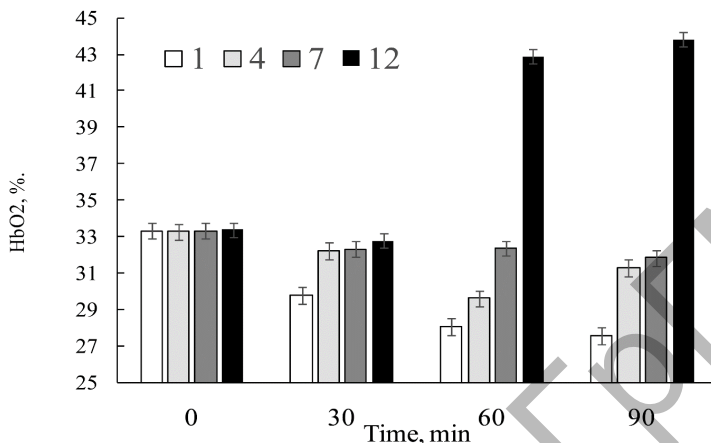


Рисунок 7 – Фракции HbO₂% эритроцитов человека при аппликации молсидомина (Mean ± SD)

Примечание: * – наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, Two-way ANOVA). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Добавление ингибитора NO L-NAME в пробы крови приводило к росту флуоресценции DAF-FM эритроцитов, которая в большей степени зависела от времени наблюдения, чем от инкубации (рисунок 8). В абсолютных значениях интенсивность флуоресценции зонда не превышала значения, которые были зарегистрированы в контрольной группе за исключением проб, находившихся в условиях 1%-ного содержания кислорода в атмосфере. В последнем случае содержание NO составляло $736,5 \pm 54,1$, $1260,5 \pm 129,3$ и $1830,3 \pm 92,8$ о.е. на 30-, 60- и 90-й мин соответственно. Сопоставимые значения флуоресценции отмечались при моделировании гипоксии на уровне 7% кислорода газовой среды.

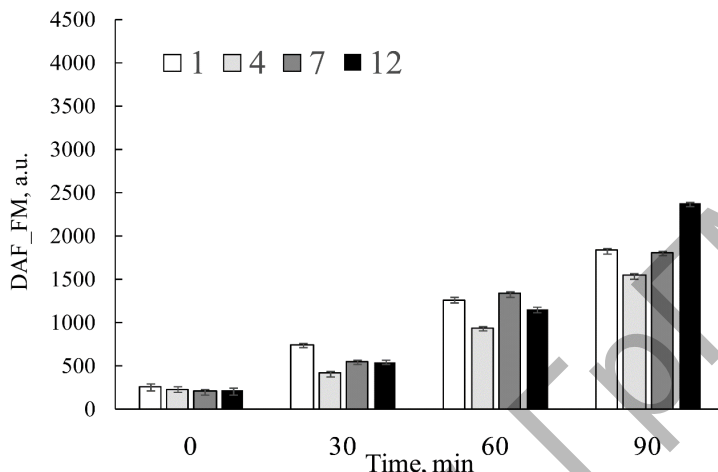


Рисунок 8 – Интенсивность флуоресценции DAF-FM эритроцитов человека при аппликации L-NAME (Mean $\pm$ SD) и парные сравнения групп, различающихся концентрацией кислорода (левая часть) и временем инкубации (правая часть). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Спектральный анализ крови показал, что самые выраженные изменения спектров поглощения отмечались на 90-й мин наблюдения при блокировании фермента NO-синтазы эритроцитов (рисунок 9). Так, при 7%-ной концентрации кислорода доля HbO₂ снизилась до $30,3 \pm 0,4\%$, а 12%-ное содержание кислорода приводило к росту фракции оксигемоглобина до $43,2 \pm 0,7\%$. Следует отметить, что наибольшее значение оксигемоглобина было характерно для 60-минутной инкубации при наибольшем уровне кислорода модельной газовой смеси. Рост фракции оксигемоглобина сопровождался пропорциональным снижением фракции дезоксигемоглобина. В условиях 1%-ного содержания кислорода в атмосфере выявлены отличия в доле оксигемоглобина при аппликации L-NAME на 90-й мин наблюдения.

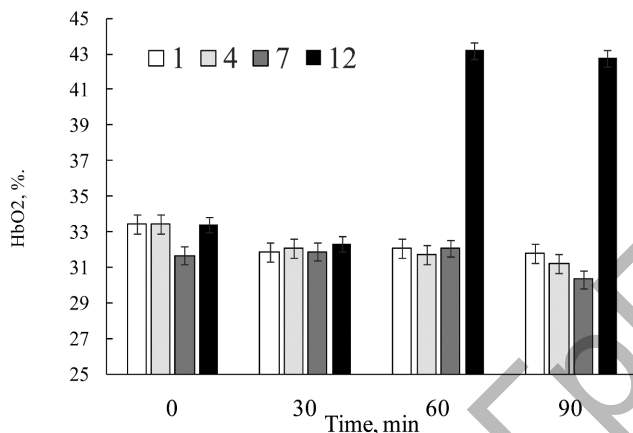


Рисунок 9 – Фракция HbO₂% эритроцитов человека при аппликации L-NAME (Mean ± SD). * - наличие достоверных различий по отношению к контролю ($p \leq 0,05$, Two-way ANOVA). 1-, 4-, 7- и 12%-ное содержание кислорода в модельной газовой смеси.

Непараметрический корреляционный анализ выявил наличие слабой отрицательной связи ($-0,24$, $p < 0,05$) между внутриклеточным содержанием NO в эритроцитах и фракцией оксигемоглобина цельной крови как в группе контроля, так и при применении доноров NO и ингибиторов NO-синтазы.

Площадь поверхности эритроцитов в условиях нормоксии (контроль по воздействию) составляла $134,5 \pm 12,2$ мкм². Воздействие гипоксии практически не оказывало влияния на площадь диффузионной поверхности эритроцитов: все режимы гипоксии не сопровождалась изменениями.

Инкубирование суспензии эритроцитов с донором NO в условиях гипоксии сопровождалось ростом площади поверхности клеток при всех применяемых в исследовании концентрациях кислорода на протяжении всего периода наблюдения. Следует отметить, что для этого соединения типичным является быстрая реакция клеток на воздействие – самые выраженные реакции зарегистрированы спустя 30 мин после аппликации молсидомина. К окончанию периода

наблюдения происходили процессы восстановления формы клеток, поскольку регистрировалось снижение площади поверхности эритроцитов после достижения ее максимума для каждой экспериментально создаваемой концентрации кислорода. Исходных значений площади поверхности клеток после применения донора NO достигнуто не было. Аппликация L-NAME в условиях гипоксии характеризовалась ростом вариабельности площади поверхности клеток без изменений средних значений исследуемых параметров ($p > 0,05$). Необходимо отметить тенденцию к снижению площади поверхности эритроцитов на 90-й мин наблюдения.

Обсуждение результатов

Способность эритроцитов реагировать на изменение внутренней среды является важнейшим свойством красных кровяных телец. В свою очередь, на эту функцию способен оказывать влияние газотрансмиттер NO [18]. Реакции гемоглобина с NO будут различаться в зависимости от значений парциального напряжения кислорода [7], а образование, депонирование и элиминация NO-производных гемоглобина будут определять кислородтранспортную функцию крови [6]. Для проведения экспериментов с клетками или клеточными культурами при изучении влияния гипо-/гипероксических газовых смесей используют CO₂ инкубаторы, эксикаторы, перчаточные боксы и др. Они позволяют поддерживать необходимый состав газов для клеток, создавая условия для проведения экспериментальных исследований. Концентрация O₂ в атмосфере на уровне моря постоянна и составляет 20,9 %, парциальное давление O₂ (pO₂) при этом – 159 мм рт. ст. Такие показатели характерны для нормоксии [13]. В зависимости от высоты над уровнем моря, а также от того, сколько CO₂ содержится в газовой смеси, процентное содержание кислорода в воздухе может варьироваться [13]. Так с увеличением высоты и падением барометрического давления снижается и парциальное давление O₂ атмосферного воздуха.

Известно, что эритроцитарные предшественники проходят процесс созревания в костном мозге, который представляет собой орган со сложной структурой, включающей гранулопоэтические локусы, эриробластные островки и лимфоцитарные узелки. Важным фактором, определяющим пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических стволовых клеток и клеток-предшественников костного мозга, является напряжение кислорода [9]. По мнению [5], для покоящихся клеток ниш костного мозга характерно низкое давление кислорода, что подтверждается уровнем экспрессии индуцируемого гипоксией фактора (HIF-1) и родственных генов.

Эритроциты периферической крови – терминально дифференцированные клетки, а их непосредственными предшественниками являются ретикулоциты. Ретикулоциты костного мозга, не покидая его пределов, в течение 70-120 часов продолжают синтезировать гемоглобин. Затем они поступают в периферическое русло, где через 3 суток утрачивают базофильную сетчатую субстанцию и превращаются в зрелые клетки эритроидного ряда – эритроциты. Главными отличительными признаками ретикулоцитов периферической крови являются остатки РНК в цитоплазме и рецепторы трансферрина на цитоплазматической мембране, что отличает их от красных кровяных телец. Полный цикл эритропоэза у взрослого человека происходит в красном костном мозге, который отличается сложной структурной, включающей гранулопоэтические локусы, эриробластные островки и лимфоцитарные узелки.

Основным гормоном, участвующим в регуляции эритропоэза является эритропоэтин (ЭПО), представляющий собой гликопротеин, состоящий из 166 аминокислот с N- и O-гликановыми фрагментами. Известно, что нормальный диапазон концентраций ЭПО в сыворотке относительно низок (4-26 мЕд/мл), и в физиологических условиях линейное снижение гематокрита приводит к экспоненциальному увеличению его концентрации в сыворотке. Основной точкой приложения ЭПО является ЭПО-рецептор клеток эритроцитарного ростка, через который эритропоэтин защищает клетки от апоптоза [13].

Эритропоэтин, циркулирующий в крови, оказывает влияние и на эритроциты и ретикулоциты периферической крови, модулируя сродство гемоглобина к кислороду [4].

В экспериментах *in vivo* на млекопитающих показано, что, несмотря на очень высокую плотность сосудов, среднее значение напряжения кислорода костного мозга составляет 22 мм рт. ст., что ниже чем нормальное значение этого параметра для венозной крови животных [5]. В литературе используется термин физиологическая нормоксия или физиологическая гипоксия (physoxia), который используется для более узкого диапазона (3-7% O₂), соответствующему уровню кислорода, наблюдаемому в большинстве тканей. Следует отметить, что даже эти условия считаются гипоксическими по сравнению с условиями нормоксии (20% O₂). Создание для клеток, или клеточной культуры условий физиологической гипоксии вместо нормоксии является более обоснованным, что позволяет получать более точные и релевантные результаты. При нормоксии избыток кислорода приводит к формированию активных форм кислорода, которые вызывают молекулярные повреждения ДНК и белков и могут искажать экспериментальные результаты [4]. Нормоксия также не включает в себя эпизодов физиологической гипоксии *in vivo*, возникающих в процессе адаптации к условиям высокогорья, а также характерных для спортсменов при тренировочных нагрузках. Физиологическая гипоксия сопровождает здоровых людей в связи со специфическими условиями их профессиональной деятельности (шахтеры, летчики, пожарники и др.). Во всех этих случаях, в процессах адаптации к физиологической гипоксии принимают участие газотрансмиттеры (например, монооксид азота) и индуцируемый гипоксией фактора.

Биохимики и клиницисты (а также физиологи) по-разному определяют гипоксию. В биохимии для состояния гипоксии характерен O₂-ограниченный транспорт электронов, в физиологии и медицине характеристиками этого состояния является пониженная доступность кислорода и/или его низкое парциальное давление. Физиологическую гипоксию можно

охарактеризовать как состояние, при котором клеткам и тканям для поддержания гомеостаза необходимо запускать различные адаптационные реакции. Такими реакциями на уровне тканей может быть вазодилатация, реализуемая с участием NO, увеличение кровотока и/или активация генов ответа на гипоксию. С другой стороны, высокое парциальное давление кислорода (гипероксия) возникающее на фоне гипервентиляции легких при проведении реанимационных мероприятий у новорожденных, может приводить к оксидативному стрессу. В механизмах поддержания про-/антиоксидантного гомеостаза эритроцитов принимает участие L-аргинин-NO-система. Так, например, за счет связывания свободного монооксида азота эритроцитами, обеспечивается вазоконстрикция и последующее приведение в соответствие параметров вентиляции легких уровню метаболизма.

Вероятно диапазон физиологической гипоксии будет различаться для разных клеток и, в частности, для эритроцитов, таким диапазоном будет 3-10% O₂. За пределом этого диапазона адаптационные механизмы будут неспособны поддерживать постоянство внутренней среды, что приведет к срыву адаптации и повреждению красных кровяных телец. Немаловажным фактором является экспозиция воздействия, поскольку гомеостатические механизмы могут быть эффективны даже за пределами физиологической гипоксии, при условии непродолжительности повреждающего воздействия. В условиях нормоксии *in vitro* при кинетических исследованиях внутриклеточного содержания NO методом проточной цитометрии выявлен феномен спонтанного роста флуоресценции внутриклеточного зонда, который блокировался предварительным введением ингибитора фермента NO-синтазы. Такой характер изменений указывает на фоновую активность NO-синтезирующих ферментов в эритроцитах периферической крови, накоплении NO-производных гемоглобина в красных кровяных тельцах в условиях нормоксии. Последний вывод подтверждается значительным ростом флуоресценции внутриклеточного зонда при использовании молсидомина в условиях нормоксии *in vitro*.

Оценка флуоресценции DAF-FM эритроцитов в условиях гипоксии, проведенная на планшетном спектрофлуориметре, выявила зависимость флуоресценции DAF-FM и от содержания кислорода, и от времени инкубации. Последний фактор согласно проведенному многофакторному дисперсионному анализу вносил больший вклад в рост внутриклеточного содержания NO. Наиболее значительное аккумуляирование NO в клетке в условиях 7- и 12%-ного содержания кислорода отражает особенности функционирования (способность к адаптации?) L-аргинин-NO-системы эритроцитов. В работе [11] на основе многолетних исследований разработана концепция цикла оксида азота: L-аргинин $\rightarrow$ NO $\rightarrow$ NO₂/NO₃⁻, в пользу которой свидетельствуют данные об NO-синтазной и нитритредуктазной активности гемсодержащих белков млекопитающих. При этом, при участии кислорода и его активированных форм NO, являясь короткоживущим соединением, может превращаться в нитриты и нитраты. При этом как эндогенные, так и экзогенные нитриты и нитраты в свою очередь могут быть источником NO, а ионы NO₂ восстанавливаются до NO при участии гемсодержащих белков, находящихся в дезоксиформе.

Концентрация кислорода выше 7%, используемая в исследовании, вызывала рост фракции оксигемоглобина. Вероятно, данные условия являются оптимальными для NO-синтезирующих ферментов эритроцитов. При моделировании экстремальных условий (1% кислорода в атмосфере) к 90-й мин наблюдения также регистрировался рост внутриклеточного содержания NO эритроцитов. При этом было выявлено снижение фракции оксигемоглобина на 10%. Тот факт, что увеличение внутриклеточной концентрации NO может происходить как при росте, так и при снижении фракции HbO₂ в эритроцитах, может указывать на доминирование внутриклеточных механизмов образования и утилизации NO над кислородтранспортной функцией гемоглобина эритроцита. Относительную независимость этих процессов подтверждает выявленная нами слабая корреляционная связь между внутриклеточным содержанием NO в эритроцитах и фракцией оксигемоглобина цельной крови.

Аппликация донора NO при изучении функционирования L-аргинин-NO-системы эритроцитов в условиях различного парциального давления кислорода показала, что несмотря на значительный рост внутриклеточного NO (образование и депонирование NO-производных гемоглобина) и при 1%, и при 12% содержании кислорода в модельных газовых смесях при низком значении кислорода регистрировалось снижение фракции HbO₂, а при 12% – значительный ее рост. В работе [17], показано, что при использовании ряда доноров NO, таких как нитроглицерин и молсидомин происходит снижение степени насыщения гемоглобина кислородом. По мнению авторов [17] указанные изменения SO₂ связаны со снижением напряжения кислорода (pO₂) в образцах с молсидоминном. В наших исследованиях оценка pO₂ не проводилась, но нельзя исключить влияния на сродство гемоглобина к кислороду внутриэритроцитарных NO-форм гемоглобина: S-нитрозогемоглобин, нитрозилгемоглобин и др., образование которых происходит при инкубации эритроцитов в условиях гипоксии *in vitro*, и которые могут в значительной степени определять кислородсвязывающие свойства крови. Следовательно, при разных значениях парциального давления кислорода характер образования NO-производных гемоглобина при введении молсидомина определяется, в основном, парциальным напряжением кислорода плазмы крови.

В отличие от молсидомина введение неселективного ингибитора фермента NO-синтазы L-NAME оказало влияние на реакцию эритроцитов на гипоксию, особенно на условия, близкие к аноксии. Фракция оксигемоглобина при меньших значениях кислорода в модельных смесях (1 и 4%) была больше, чем при 7%-ном содержании кислорода в атмосфере перчаточного бокса. Выявленный феномен, вероятно, связан как с высокой активностью NO-синтазной системы эритроцитов при 7%-ном содержания кислорода, так и с участием в этих процессах фермента NO-синтазы.

В кровотоке эритроциты находятся в условиях с различными уровнями кислорода, которое может достигать 10 -

13% O₂ [8] в артериях, альвеолах легких и печени, 3 - 5% O₂ в венозной крови, 0.5 - 7% O₂ в костном мозге и головном мозге и до 1% O₂ в хрящевой ткани [13]. Адаптация к гипоксии [12] является кислородзависимой, обеспечивается сенсорной и волюморцепторной функцией гемоглобина [2]. Наши исследования методом световой микроскопии показали, что функционирования L-аргинин-NO- системы эритроцитов в условиях низких значений парциального давления кислорода *in vitro* не включает в себя морфологических изменений клеток. Значимые изменения площади поверхности красных кровяных телец происходили только при аппликации молсидомина.

Библиографический список

1. Крыжановская С.Ю. и др. Процедуры гипоксического кондиционирования не приводят к чрезмерной активации оксидативного стресса у практически здоровых обследуемых // Российский физиологический журнал им И М Сеченова. – 2019. – Т. 105. – № 1. – С. 89–99.
2. Barvitenko N., Adragna N., Weber R. Erythrocyte Signal Transduction Pathways, their Oxygenation Dependence and Functional Significance // Cellular Physiology and Biochemistry. – 2005. – Vol. 15, № 1-4. – P. 001–018.
3. Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting / C. Briggs // International Journal of Laboratory Hematology. – 2009. – Vol. 31, № 3. – P. 277–297.
4. Buehler P.W., Alayash A.I. Oxidation of hemoglobin: mechanisms of control in vitro and in vivo // Transfusion Alternatives in Transfusion Medicine. – 2007. – Vol. 9, № 4. – P. 204–212.
5. Böhmer A. et al. Doubts concerning functional endothelial nitric oxide synthase in human erythrocytes // Blood. – 2012. – Vol. 119. – № 5. – P. 1322–1323.
6. Grygorczyk R., Orlov S.N. Effects of Hypoxia on Erythrocyte Membrane Properties-Implications for Intravascular Hemolysis and Purinergic Control of Blood Flow // Frontiers in Physiology. – 2017. – Vol. 8. – P. 1110.

7. Helms C.C., Gladwin M.T., Kim-Shapiro D.B. Erythrocytes and Vascular Function: Oxygen and Nitric Oxide // *Frontiers in Physiology*. – 2018. – Vol. 9. – Erythrocytes and Vascular Function. – P. 125.

8. Hung S.-P. et al. Hypoxia promotes proliferation and osteogenic differentiation potentials of human mesenchymal stem cells: HYPOXIA PROMOTES MSCs PROLIFERATION // *Journal of Orthopaedic Research*. – 2012. – Vol. 30, № 2. – P. 260–266.

9. Kleinbongard P. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase // *Blood*. – 2006. – Vol. 107, № 7. – P. 2943–2951.

10. Li N., Sul J.-Y., Haydon P.G. A Calcium-Induced Calcium Influx Factor, Nitric Oxide, Modulates the Refilling of Calcium Stores in Astrocytes // *The Journal of Neuroscience*. – 2003. – Vol. 23, № 32. – P. 10302–10310.

11. Menshikova E.B., Zenkov N.K., Reutov V.P. Nitric oxide and NO-synthases in mammals in different functional states // *Biochemistry. Biokhimiia*. – 2000. – Vol. 65, № 4. – P. 409–426.

12. Zhao Y. et al. Nitric oxide in red blood cell adaptation to hypoxia // *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. – 2018. – Vol. 50, № 7. – P. 621–634.

13. Mikhael M.R. et al. Nitrogen monoxide inhibits haem synthesis in mouse reticulocytes // *Biochemical Journal*. – 2013. – T. 451, № 1. – P. 61–67.

14. Brennan M.D. et al. Oxygen control with microfluidics // *Lab Chip*. – 2014. – Vol. 14, № 22. – P. 4305–4318.

15. Faber D.J. et al. Oxygen Saturation-Dependent Absorption and Scattering of Blood // *Physical Review Letters*. – 2004. – Vol. 93, № 2. – P. 028102.

16. Leo F. et al. Red Blood Cell and Endothelial eNOS Independently Regulate Circulating Nitric Oxide Metabolites and Blood Pressure // *Circulation*. – 2021. – Vol. 144, № 11. – P. 870–889.

17. Stepuro T.L., Zinchuk V.V. Nitric oxide effect on the hemoglobin-oxygen affinity // *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*. – 2006. – Vol. 57, № 1. – P. 29–38.

18./ Dybas J. et al. Rends in biomedical analysis of red blood cells – Raman spectroscopy against other spectroscopic, microscopic and classical techniques // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2022. – Vol. 146. – P. 116481.

Глава 4. Коррекция кислородзависимых процессов при термическом ожоге кожи у беременных крыс методом низкоинтенсивного лазерного облучения крови

Т.В. Ковальчук-Болбатун, В.В. Зинчук, С.М. Смотрин,
Гродненский государственный медицинский университет

Травма во время беременности считается ведущей причиной смерти не акушерской этиологии беременной женщины, и самой частой причиной гибели плода [1]. Особого внимания заслуживает термическая травма. Известно, что беременность сопровождается значительными физиологическими изменениями в организме матери, в связи с этим риск развития тяжелых осложнений, вплоть до внутриутробной гибели плода и материнской смертности, достаточно велик. Исход для будущей матери и плода зависит от степени ожога, наличия или отсутствия осложнений, а также срока беременности [2]. Публикации по данной теме свидетельствуют о больших трудностях в оказании квалифицированной помощи беременным с термическим ожогом кожи. Каждый случай требует индивидуального подхода и участия врачей различных специальностей.

В процессе беременности образуется единая функциональная система «мать-плод», которая состоит из двух подсистем – организм матери и организм плода, а также плаценты, являющейся связующим звеном между ними. Главная функция системы – это поддержание оптимальных условий развития плода в организме беременной женщины в нормальных условиях, а также при воздействии экстремальных факторов. Известно, что устойчивость организма будущей матери к воздействию условий окружающей среды во время беременности возрастает, но сильное или длительное воздействие неблагоприятных факторов вынуждает быстро перестроить регуляторные механизмы, обеспечивающие равновесие в системе «мать-плод». Часто в этом случае организму беременной не удается полностью защитить плод от неблагоприятных условий, что проявляется не только в

отклонениях развития плода, но и в различных функциональных нарушениях на последующих этапах онтогенеза [3].

В результате термической травмы, кроме видимого повреждения кожного покрова, происходит ряд взаимосвязанных гемореологических, гемокоагуляционных и микроциркуляторных расстройств [4, 5]. Выделение целого спектра различных медиаторов воспаления приводит к спазму периферических сосудов, централизации кровообращения, повышению свертываемости крови, возникновению микротромбозов, нарушению микроциркуляции, приводящей к развитию тканевой гипоксии и ацидозу [6]. В патогенезе ожоговой травмы особое значение имеет избыточное образование активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в организме пострадавших. Основными источниками кислородных радикалов, обуславливающих развитие генерализованного окислительного стресса при ожогах являются ишемизированные ткани, тканевые макрофаги, а также нейтрофилы и базофилы. Продукты ПОЛ повреждают энергопродуцирующую систему, разрушая клеточные биомембраны митохондрий, и усугубляют гипоксию [7]. В клинической практике применяется несколько способов коррекции данного патологического состояния, в том числе и воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением, в частности внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК), которое благодаря своей уникальной эффективности, отсутствию побочных эффектов и специфических противопоказаний, а также простоте и низкой себестоимости уже давно заняло прочные позиции в современной медицине [8, 9]. Такие эффекты ВЛОК, как улучшение микроциркуляции, уменьшение ишемии в тканях и органах, нормализация энергетического метаболизма клеток, которые находились в условиях гипоксии, снижение процессов ПОЛ, противовоспалительное действие, нормализация проницаемости капилляров, уменьшение отечного и болевого синдромов положительно влияют на кислородзависимые процессы в организме пациентов с термической травмой, но не изучены у беременных с термическим ожогом кожи [10].

У крыс гемохориальный тип плацтации и, идентично трем триместрам беременности, 3-х недельная гестация, что позволило в динамике ультракороткого времени беременности изучать нарушения, происходящие в системе «мать-плод» у беременных с термическим ожогом кожи [11]. Экспериментальное исследование проводилось на 81 беременной самке беспородных белых крыс массой 200-250г., которые были разделены на три группы. Контрольную группу составили беременные интактные крысы, первую опытную группу - крысы с термическим ожогом кожи в раннем периоде беременности, вторую опытную группу – крысы с термическим ожогом кожи в раннем периоде беременности, которым выполнялось ВЛОК. Методика выполнения экспериментальной травмы предусматривала ожог III степени освобожденной от шерсти кожи спины. Ожог наносили под наркозом (тиопентала натрия внутривенно, в дозе 50 мг/кг) горячей жидкостью (вода) 99-100°C в течение 15 секунд специально разработанным устройством [12].

В результате воздействия термического агента создавались стандартные по площади (около 12 см²) ожоговые раны, защиту которых от воздействия внешних факторов осуществляли с помощью предохранительной камеры [13]. Для проведения низкоинтенсивного лазерного облучения крови использовали аппарат лазерной терапии «Люзар-МП» (Беларусь), длина волны (λ) 670 нм, мощность на выходе световода 2,0 мВт. Одноразовый стерильный световод с иглой вводили в боковую вену хвоста крысы, время первого сеанса лазерной гемотерапии составило 10 мин, последующие 4 сеанса выполнялись через сутки по 15 мин (рисунок 1) [10].

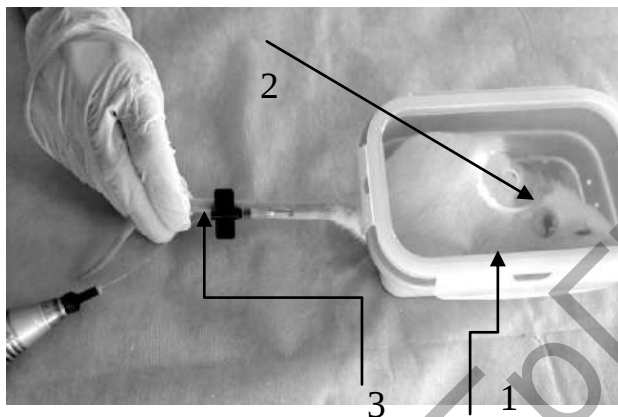


Рисунок 1 – Проведение низкоинтенсивного лазерного облучения крови у крыс с термическим ожогом кожи (1 – камера; 2 – крыса; 3 – проводник лазера в хвостовой вене)

В таблице 1 приведены изменения основных показателей КТФК и КОС на 6-е сутки беременности у крыс с термической травмой и в условиях коррекции методом ВЛОК. У беременных крыс с термическим ожогом кожи наблюдалось снижение величины pO_2 на 37,2% ($p<0,01$), а также снижение величины SO_2 на 24,2% ($p<0,05$) в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует об ухудшении кислородного обеспечения организма беременной крысы с термической травмой и развитии гипоксии. Также на 6-е сутки беременности $p50_{\text{реал.}}$ в первой опытной группе увеличилось на 3,5 мм рт. ст. ($p<0,01$), $p50_{\text{станд.}}$ на 3,7 мм рт. ст. ($p<0,01$), что указывает на сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и уменьшение аффинитета гемоглобина к кислороду. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо можно расценивать как попытку компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в свободнорадикальных процессах, увеличение потока кислорода в ткани может привести к развитию окислительного стресса [14].

Таблица 1 – Основные показатели кислородтранспортной функции крови и кислотно-основного состояния на 6-е сутки беременности у крыс после термического ожога и в условиях коррекции методом ВЛОК, Ме (25; 75%)

Показатель	Контроль	Опыт 1 (ожог)	Опыт 2 (ожог + ВЛОК)
n	9	9	9
pO ₂ , мм рт. ст.	21,5 (19,1; 23,1)	13,5 (11,9; 13,9)**	15 (14,2; 16,1)**#
SO ₂ , %	31 (28,1; 31,5)	23,5 (19,6; 27,4)*	24,7 (22,4; 26,2)*
Hb, г/л	129 (125; 137)	118 (112; 128)*	121 (113; 129)
pH, ед	7,41 (7,396; 7,413)	7,359 (7,348; 7,37)**	7,371 (7,369; 7,382)*
pCO ₂ , мм рт. ст.	45,8 (44,6; 46,3)	42,3 (41,1; 44)*	43,5 (42,8; 44,9)
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,9 (24,8; 27)	19,2 (18,7; 20,3)**	21,4 (20,7; 22)**#
TCO ₂ , ммоль/л	27,9 (26,4; 29,1)	22,8 (22,1; 23,8)**	23,9 (23,2; 25,2)*
ABE, ммоль/л	-1,9 (-2,3; -0,8)	-4,2 (-5,5; -3,4)*	-3,8 (-4,7; -2,5)*
SBE, ммоль/л	-1,5 (-2,2; -0,5)	-3,2 (-4,1; -2,7)*	-2,9 (-3,3; -2)*
SBC, ммоль/л	25,1 (24,2; 26,7)	20,1 (19,5; 22,1)**	22,1 (21,5; 24,1)*
p50реал., мм рт. ст.	26,1 (25,9; 26,4)	29,6 (28,9; 30,1)**	28,7 (28; 29,2)**
p50станд., мм рт. ст.	26 (25,9; 26,2)	29,7 (29,1; 30,2)**	28,9 (28,6; 29,1)**#

Примечание: * - $p < 0,05$ достоверные изменения в сравнении с контролем; ** - $p < 0,01$ достоверные изменения в сравнении с контролем; # - $p < 0,05$ достоверные изменения в сравнении с опыт 1

Во второй опытной группе, где проводилось низкоинтенсивное лазерное облучение крови с целью коррекций нарушений вызванных термической травмой, отмечалось меньшее снижение значений pO₂ (на 30,2%, $p < 0,01$) и SO₂ (на 20,3%, $p < 0,01$) в сравнении в контрольной группой. Показатель

СГК р50реал. был увеличен на 2,6 мм рт. ст. ($p<0,01$) в сравнении с контролем, что указывает на сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, как и в группе без коррекции, но выраженный в меньшей степени.

Таблица 2 – Основные показатели кислородтранспортной функции крови и кислотно-основного состояния на 13-е сутки беременности у крыс после термического ожога и в условиях коррекции методом ВЛОК, Ме (25; 75%)

Показатель	Контроль	Опыт 1 (ожог)	Опыт 2 (ожог + ВЛОК)
n	9	9	9
pO ₂ , мм рт. ст.	20,6 (20; 23,7)	15,5 (14,9; 16,3)*	19 (16,8; 20,5)#
SO ₂ , %	30,3 (29,4; 31,6)	24,8 (23,9; 26,1)**	26,6 (24,1; 28,1)*
Hb, г/л	125 (117; 130)	119 (114; 123)	121 (115; 128)
pH, ед	7,402 (7,395; 7,411)	7,365 (7,358; 7,371)**	7,385 (7,373; 7,392)*#
pCO ₂ , мм рт. ст.	44,8 (44; 46,2)	43,7 (42,5; 44,1)*	45 (44,5; 47,8)#
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,4 (24,5; 27,1)	21,3 (20,1; 22)*	23,4 (22,4; 25,1)#
TCO ₂ , ммоль/л	27,7 (26,2; 28,5)	23,8 (22,4; 24,8)*	25,6 (23,9; 27)
ABE, ммоль/л	-2,9 (-3,3; -1,9)	-3,9 (-4,5; -3,2)*	-3,1 (-4; -1,5)
SBE, ммоль/л	-1,5 (-2,2; -0,5)	-2,9 (-3,4; -2,1)*	-1,8 (-2,1; -1)#
SBC, ммоль/л	24,8 (23,9; 25,6)	22,3 (21; 23,7)*	24,1 (22,1; 24,7)
p50реал., мм рт. ст.	26,7 (26,5; 26,9)	28,2 (27,4; 29,1)*	27,6 (27; 28,4)*
p50станд., мм рт. ст.	26,3 (26,2; 26,5)	28 (27,1; 28,9)*	27,5 (26,4; 28)

Примечание: * – $p<0,05$ достоверные изменения в сравнении с контролем; ** – $p<0,01$ достоверные изменения в сравнении с контролем; # – $p<0,05$ достоверные изменения в сравнении с опыт 1

На 13-е сутки беременности у крыс с термическим ожогом кожи сохраняются нарушения КТФК (pO_2 снижен на 24,8%, SO_2 на 18,2% ($p<0,01$), $p50_{\text{реал.}}$ увеличен на 1,5 мм рт. ст., $p50_{\text{станд.}}$ на 1,7 мм рт. ст., ($p<0,05$)) и КОС (pH 7,365 ед. в сравнении с контролем 7,402, $p<0,01$). Применение ВЛОК во второй опытной группе привело к достоверному увеличению показателей pO_2 , pH , HCO_3^- , SBE в сравнении опытной группой без коррекции, при этом большинство показателей КТФК существенно не отличаются от показателей контрольной группы (табл. 2). К 20-м суткам беременности отмечалось улучшение показателей КТФК у экспериментальных животных после термического воздействия и статистически значимых различий между исследуемыми группами не наблюдалось (табл. 3).

Таблица 3 – Основные показатели кислородтранспортной функции крови и кислотно-основного состояния на 20-е сутки беременности у крыс после термического ожога и в условиях коррекции методом ВЛОК, Ме (25; 75%)

Показатель	Контроль	Опыт 1 (ожог)	Опыт 2 (ожог + ВЛОК)
n	9	9	9
pO_2 , мм рт. ст.	17,4 (16,5; 20,3)	16,9 (15,4; 17,7)	17,7 (15,5; 21)
SO_2 , %	28 (27,1; 28,4)	27,6 (26,1; 28,5)	29,6 (27,9; 31,2)
Hb, г/л	122 (119; 128)	115 (109; 121)	122 (120; 133)
pH, ед	7,391 (7,387; 7,398)	7,387 (7,381; 7,398)	7,399 (7,387; 7,411)
pCO_2 , мм рт. ст.	45,6 (43,8; 48,7)	46,2 (43,5; 47,1)	46 (44,2; 46,9)
HCO_3^- , ммоль/л	26,8 (25,1; 27,4)	25 (23,1; 25,4)	26,1 (25,7; 26,8)#
TCO_2 , ммоль/л	28,1 (26,5; 29,3)	26,9 (25,4; 28)	28,4 (26,8; 29)
ABE, ммоль/л	-2,3 (-2,6; -1,8)	-3 (-3,8; -2,1)	-1,9 (-2,6; -1)
SBE, ммоль/л	-1,1 (-1,8; -0,9)	-2,1 (-2,4; -1,5)	-1,7 (-2,1; -0,6)
SBC, ммоль/л	24,1 (23,7; 25)	23 (21,2; 23,9)	25,1 (23,4; 26,1)
$p50_{\text{реал.}}$, мм рт. ст.	27,1 (26,7; 27,6)	27,3 (26,6; 28)	26,8 (26,5; 28,1)
$p50_{\text{станд.}}$, мм рт. ст.	26,6 (26,4; 26,8)	27,1 (26,3; 27,4)	27 (26,5; 27,2)

Примечание: # – $p<0,05$ достоверные изменения в сравнении с опыт 1

Состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса при моделировании термического ожога кожи у беременных крыс на 6-е сутки беременности характеризовалось значительным подъемом концентрации ДК в плазме крови $2,4 \Delta D_{233}/\text{мл}$, $p < 0,05$ в сравнении с контролем $1,3 \Delta D_{233}/\text{мл}$ (таблица 4). Уровень данного первичного продукта ПОЛ оставался увеличенным на 75%, $p < 0,05$ на 13-е сутки и на 67%, $p < 0,05$ на 20-е сутки беременности. Содержание МДА на 6-и сутки беременности повысилось на 27%, $p < 0,05$, на 13-е - на 44%, $p < 0,05$. В результате проведения низкоинтенсивного лазерного облучения крови отмечалось снижение активности процессов ПОЛ. Так уровень ДК уже на 6-е сутки беременности был на 16,7% ниже, чем в первой опытной группе, а на 13-е сутки беременности уровень ДК и МДА снизился до контрольных значений. У беременных крыс с термическим ожогом кожи на фоне возросшей активности процессов ПОЛ отмечалось значительное угнетение механизмов АОЗ, проявляющееся уменьшением активности каталазы и уровня α -токоферола и ретинола. После проведенной коррекции на 6-е сутки беременности активность каталазы возросла на 8,9%, уровень α -токоферола на 21%, ретинола на 9,1%, уровень церулоплазмينا достиг контрольных значений. На 13-е сутки беременности значения показателей АОЗ достоверно не отличались от контрольных.

Возникающий дисбаланс в про- и антиоксидантной системах, наблюдаемый при термической травме у беременных крыс создает условия для возникновения оксидативного клеточного стресса [16]. Формирование данного стресса при термическом ожоге кожи рассматривается как последовательные звенья патологической цепи: расстройство кровообращения и микроциркуляции, кислородное голодание, эндогенная интоксикация, гиперпродукция АФК и активация процессов ПОЛ, истощение АОЗ [17].

Таблица 4 – Прооксидантно-антиоксидантный баланс у беременных крыс с термическим ожогом кожи и в условиях коррекции методом ВЛОК, Ме (25; 75%)

Показатель	6-е сутки беременности			13-е сутки беременности			20-е сутки беременности		
	Контроль	Опыт 1 (ожог)	Опыт 2 (ожог + ВЛОК)	Контроль	Опыт 1 (ожог)	Опыт 2 (ожог + ВЛОК)	Контроль	Опыт 1 (ожог)	Опыт 2 (ожог + ВЛОК)
п	9	9	9	9	9	9	9	9	9
ДК, ΔD233/мл	1,3 (1,1; 1,6)	2,4 (1,8; 2,8)*	2,0 (1,6; 2,2)*	1,2 (1,1;1,5)	2,1 (1,3; 2,6)*	1,6 (1,2; 1,7)	1,2 (1,1; 1,4)	2 (1,9; 3,5)*	1,4 (1,1; 1,6)#
МДА, мкмоль/л	3 (2,6;3,5)	3,8 (3,4; 4,4)*	4 (3,4; 4,2)*	2,7 (2; 3)	3,9 (2,8; 4,1)*	2,9 (2,7; 3,5)	3 (2,5; 3,3)	3 (2,2; 3,9)	2,9 (2,1; 3,4)
Каталаза, нмоль H2O2/мин/мг белка	0,58 (0,47; 0,73)	0,45 (0,38; 0,47)*	0,49 (0,44; 0,52)	0,61 (0,56; 0,74)	0,51 (0,5; 0,6)*	0,55 (0,52; 0,6)	0,64 (0,54; 0,75)	0,52 (0,43; 0,56)*	0,61 (0,55; 0,67)#
α-токоферол, мкмоль/л	18 (14,6; 18,1)	8,3 (5,7; 14,3)*	10,5 (8,5; 11,7)*	15,6 (11,4; 23,1)	13 (11; 14,8)	13,8 (12; 17,6)	14,9 (12,3; 15,6)	17,7 (14,5; 18,6)	15,9 (14,1; 19,6)
Ретинол, мкмоль/л	0,95 (0,8; 1,2)	0,8 (0,68; 1)	0,88 (0,78; 1,1)	1 (0,71; 1)	0,81 (0,65; 0,98)	0,94 (0,8; 1,15)	1 (0,9; 1,2)	0,85 (0,8; 1,4)	1,05 (0,96; 1,25)
Церулоплаз- мин, мг/л	248 (218; 279)	327 (260; 354)*	263 (235; 307)	238 (202; 246)	282 (248; 319)*	259 (222; 276)	222 (160; 314)	253 (193; 304)	234 (196; 289)

Примечание: * – $p < 0,05$ достоверные изменения в сравнении с контролем; ** - $p < 0,01$ достоверные изменения в сравнении с контролем; # - $p < 0,05$ достоверные изменения в сравнении с опыт 1

У беременных животных с термическим повреждением также была проведена оценка содержания продуктов утилизации NO (нитрат/нитритов) (рисунок 2). Наиболее выраженный рост концентрации стабильных метаболитов оксида азота отмечался на 6-е сутки беременности (151%, $p<0,05$) и сохранялся на 13-е сутки (146,5%, $p<0,05$). Патологические эффекты NO реализует за счет оксидативного стресса, в ходе которого оксид азота становится цитотоксической молекулой и теряет свои полезные физиологические свойства [18]. После проведения ВЛОК на 6-е сутки беременности суммарное содержание нитрат/нитритов снизилось на 14,8%, но все еще оставалось увеличенным в сравнении с контрольной группой 18,4 (16,5, 21,3) мкмоль/л ($p<0,05$) и 14,3 (11,8; 16,8) мкмоль/л соответственно. На 13-е сутки беременности концентрация нитрат/нитритов в группе беременных крыс с термическим ожогом кожи, которым выполнялось низкоинтенсивное лазерное облучение крови составила 15,9 (14,3; 19,8) мкмоль/л и достоверно не отличалась от контрольных значений.

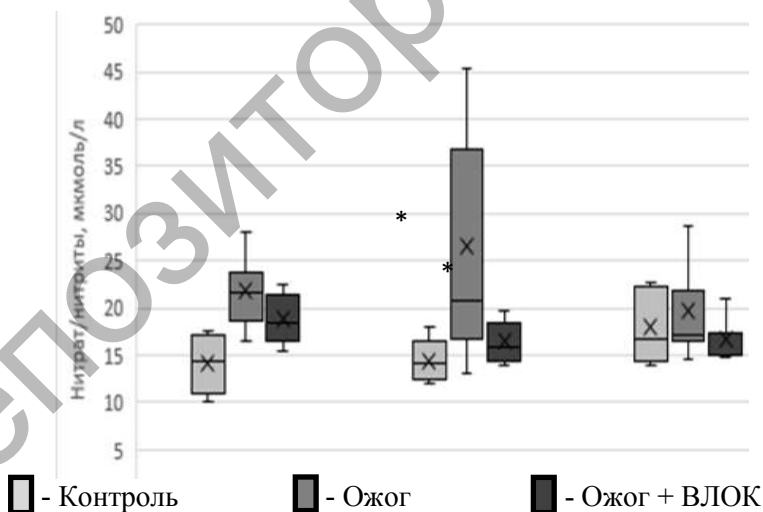


Рисунок 2 – Изменения концентрации нитрат/нитритов в плазме крови у крыс с термическим ожогом кожи и в условиях коррекции методом ВЛОК, Ме (25; 75%) * – $p<0,05$

В результате моделирования термического ожога кожи наблюдалось негативное влияние травмы на течение беременности. Так прерывание беременности наблюдалось у 33,3% крыс, в контрольной группе случаев прерывания беременности не отмечено. Показатель преимплантационной смертности плодов (разность между числом желтых тел в яичниках и числом мест имплантации в матке от общего числа желтых тел в процентах) – 38,5%, постимплантационной смертности плодов (разность между числом мест имплантации и числом живых плодов в матке от числа мест имплантации в процентах) – 25%, в контрольной группе оба показателя равны 0% (рисунок 4). Общая эмбриональная смертность (разность между числом желтых тел беременности и живыми плодами от числа желтых тел в яичниках в процентах) составила 57,7%. У живых плодов опытной группы на 20-й день беременности масса тела была меньше, чем в контрольной группе: 1,97 (1,61; 2,24) г ($p < 0,05$) и 2,65 (2,32; 2,84) г соответственно. При осмотре плодов внешних аномалий в исследуемой группе не определялось.

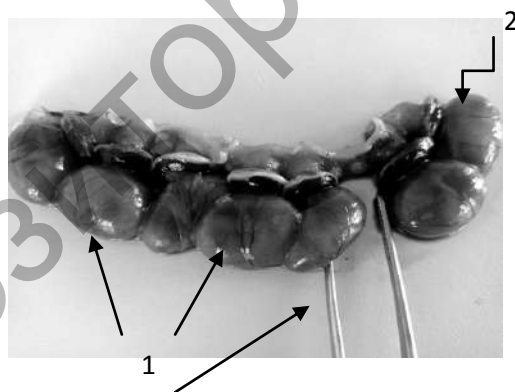


Рисунок 4 – Постимплантационная гибель плодов при моделировании термического ожога кожи (1 – живые плоды; 2 – частичная резорбция плода)

В группе крыс с термическим ожогом кожи, которым проводилось ВЛОК прерывание беременности наблюдалось у 2 крыс (22,2%). Показатель преимплантационной смертности плодов – 31,4%, постимплантационной смертности плодов – 21,8%. Общая эмбриональная смертность составила 50,9%. Масса тела живых плодов (2,6 (2,38; 2,73) г ($p < 0,05$)) была достоверно больше в сравнении с опытной группой животных, где ВЛОК не применялось. Таким образом, термический ожог кожи у беременных крыс сопровождается ухудшением КТФК (снижение pO_2 на 37,2% ($p < 0,01$) и SO_2 на 24,2% ($p < 0,05$) на 6-е сутки беременности, на 24,8% и 18,2% ($p < 0,01$) соответственно на 13-е сутки беременности, уменьшение сродства гемоглобина к кислороду) и развитием метаболического ацидоза (достоверное снижение pH , HCO_3^- , TCO_2 , SBE , ABE , SBC), а также активацией свободнорадикальных процессов (увеличение содержания нитрат/нитритов, ДК и МДА в плазме крови) и угнетением АОЗ (уменьшение активности каталазы и уровня α -токоферола и ретинола), вследствие чего возникает прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс и развивается окислительный стресс. Данные нарушения в системе гомеостаза организма матери приводят к нарушению течения беременности в виде прерывания беременности, преимплантационной и постимплантационной гибели плодов, а также гипотрофии плодов. Проведение ВЛОК у беременных крыс с глубоким термическим ожогом кожи приводит к улучшению кислородного обеспечения организма матери (увеличение pO_2 на 1,5 мм рт. ст. ($p < 0,05$) на 6-е сутки беременности и на 3,5 мм рт. ст. ($p < 0,05$) на 13-е сутки беременности), достоверно увеличивает содержание гидрокарбоната в крови, что обуславливает повышение pH , снижает активность свободнорадикальных процессов (ДК, МДА, нитрат/нитриты на 13-е сутки беременности достигают контрольных значений). Улучшение показателей системы гомеостаза организма матери, после проведения низкоинтенсивного лазерного облучения крови, способствует уменьшению случаев прерывания беременности (с 33,3% до 22,2%), показатель общей эмбриональной смертности плодов снизился на 6,2%, масса тела

живых плодов достоверно увеличилась в сравнении с опытной группой, где ВЛОК не применялось. Низкоинтенсивное лазерное облучение крови активизирует микроциркуляцию, что обуславливает нормализацию давления в микрососудах, вазодилатацию и стимуляцию неоваскулогенеза, в результате чего происходит включение резервных капилляров и коллатералей в кровоток, достигается оптимизация органной перфузии и увеличение количества доступного кислорода [19, 20]. Также ВЛОК обуславливает формирование сложной конформации белковых структур клеточных мембран форменных элементов, активизирует анаэробный обмен, увеличивает кислородную емкость крови, оказывает антигипоксическое и бактерицидное действие, улучшает сократительную способность миокарда, обеспечивает оптимизацию баланса кислорода в организме, улучшает кислородтранспортную функцию эритроцитов, реологические свойства крови, улучшает NO-синтезирующую функцию эндотелия и положительно влияет на антиоксидантную систему. [21, 22]. Проведенное экспериментальное исследование подтверждает необходимость проведения низкоинтенсивного лазерного облучения крови при глубоком термическом ожоге кожи с целью коррекции нарушений механизмов транспорта кислорода кровью и её прооксидантно-антиоксидантного состояния.

Библиографический список

1. Каримов З. Д., Жабборов У. У., Абдикулов Б. С., Хусанходжаева М. Т. Травмы у беременных: современные аспекты проблемы (обзор литературы) // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2013. – № 1. – С. 33–37.
2. Шифман Е.М., Пырегов А.В. Травма во время беременности // Медицина неотложных состояний. – 2011. – № 7-8. – С. 38–39.
3. Отеллин В.А., Хожай Л.И., Ордян Н.Э. Пренатальные стрессорные воздействия и развивающийся головной мозг.

Адаптивные механизмы, непосредственные и отсроченные эффекты. – Санкт-Петербург, РФ. – 2007. – 240 с.

4. Бочаров Р.В. Внутривенная лазерная терапия у детей младшего возраста при термической травме // Общая реаниматология. – 2014. – Т. 10, № 5. – С. 52–58.

5. Дербенев В.А., Гребенник С.Ф., Якубов Э.Ш. и др. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на динамику раневого процесса у обожженных // Лазерная медицина. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 13–17.

6. Глуткин А.В. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на механизмы транспорта кислорода кровью и прооксидантно-антиоксидантный баланс при термическом ожоге у детей младшего возраста // Экстренная медицина. – 2013. – № 3. – С. 39–49.

7. Вильдяева М.В., Инчина В.И. Обоснование эффективности применения препарата антиоксидантного типа действия мексиданта в комплексном лечении ожоговой травмы // Медицинские науки. – 2015. – № 1. – С. 46–50.

8. Ералина С.Н., Исмаилов Е.Л., Абдрасулов Р.Б. и др. Новые технологии внутривенного лазерного облучения крови. Методические рекомендации. – Алматы: Казахский нац. мед. ун-т., 2014. – 31с.

9. Козлов В.И. Механизмы фотобиостимуляции // Лазерная медицина. – 2010. – Т. 14, № 4. – 4–13.

10. Гейниц А.В., Москвин С.В., Ачилов А.А. Внутривенное лазерное облучение крови. – М., Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2012. – 336 с.

11. Гужвина Е.Н., Ильенко Л.И., Туманова Е.Л. и др. Применение природного препарата «Траумель с» для лечения плацентарной недостаточности в эксперименте // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 72–76.

12. Глуткин А.В., Ковальчук Т.В., Ковальчук В.И. Устройство для моделирования ожоговой раны у лабораторного животного: пат. ВУ 7927 / Оpubл. 28.02.12.

13. Глуткин А.В., Ковальчук Т.В., Ковальчук В.И. Предохранительная камера для экспериментального

исследования ожоговой раны у лабораторного животного: пат. ВУ 7926 / Опубл. 28.02.12.

14. Sinha N., Dabla P.K. Oxidative stress and antioxidants in hypertension-a current review // Curr Hypertens Rev. – 2015. – Vol. 11, iss. 2. – P. 132–142.

15. Зайко Н.Н., Быць Ю.В. Патологическая физиология: учебник для студ. / ред.: Н.Н. Зайко, Ю.В. Быць. – 5-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – 640 с.

16. Ушакова Т. А. К вопросу о перекисном окислении липидов у больных с ожоговой травмой // Комбустиология [Электронный ресурс]. – 2008. – № 2. – Режим доступа: <http://burn.ru/all/number/show/?id=4088>. – Дата доступа: 01.10.2021.

17. Илюкевич Г.В. и др. Реамберин как антиоксидантный метаболический корректор окислительного стресса у больных с тяжелой термической травмой // Вестн. интенс. терапии. – 2007. – № 3. – С. 66–69.

18. Коркоташвили Л.В., Романова С.В., Колесов С.А. Оксид азота, его метаболиты и система глутатиона у детей с хроническим вирусным гепатитом В и С // Вестник РАМН. – 2013. – № 10. – С. 26–30.

19. Нечипуренко Н.И. и др. Механизмы действия и биологические эффекты низкоинтенсивного лазерного излучения // Медицинские новости. – 2008. – № 12. – С. 7–21.

20. Бурдули Н.М., Крифарида А.С. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на функцию эндотелия сосудов и систему цитокинов у больных хроническими // Лазерная медицина. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 51.

21. Глуткин А.В. Влияние внутривенного лазерного облучения крови на механизмы транспорта кислорода кровью и прооксидантно-антиоксидантный баланс при термическом ожоге у детей младшего возраста // Экстренная медицина. – 2013. – Т. 3, № 7. – С. 39–49.

22. Ширяев В.С. и др. Анестезиологические аспекты применения НИЛИ - ВЛОК и ТЛОК в анестезиологии (обзор литературы) // Евразийский Союз Ученых. – 2018. – Т. 2, № 47. – С. 31–37.

Глава 5. Реперфузионно-реоксигенационный синдром при ретроградной эверсионно-петлевой эндартерэктомии при хронической атеросклеротической окклюзии

Засимович В. Н., Зинчук В. В., Иоскевич Н. Н.

Гродненский государственный медицинский университет)

Отсутствие клинических признаков улучшения кровоснабжения нижней конечности и даже нарастание ишемии после ее реваскуляризации вследствие развития реперфузионно-реоксигенационного синдрома (РРС) в значительной степени ухудшают результаты сосудистых реконструкций при облитерирующем атеросклерозе (ОА) [Биленко М.В., и др. 1989; Геньк С.Н. и др., 2016; Маршалов Д.В., 2008]. На основании анализа литературных источников [Иоскевич Н.Н., 2007; Калинин Р.Е. и др., 2014; Чеснокова Н.П. и др., 2017] и результатов собственных исследований РРС [Засимович В.Н. и др., 2020; Засимович В.Н. и др., 2021] представляется целесообразным использовать для коррекции ишемии-реперфузии лекарственные средства с выраженной антиоксидантной активностью. В последние годы появляется все больше сообщений, об успешном применении биофлавоноидов, в частности корвитина, действующим веществом которого является кверцетин, для метаболической защиты миокарда и головного мозга при ишемических и реперфузионных повреждениях [Мищенко Т.С., Дмитриева Е.В., 2018; Тронько Н.Д. и др., 2020]. Кверцетин, являясь биофлавоноидом антиоксидантного и капилляростабилизирующего действия, снижает выработку цитотоксического супероксид-аниона, тормозит продукцию интерлейкинов, снижает активность лимфоцитов, обладает иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами, восстанавливает микроциркуляцию без заметных изменений сосудистого тонуса [Максютина Н.П. и др., 2012]. Показано в эксперименте, что его введение вызывает в условиях окислительного стресса снижение содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови и повышение сродства гемоглобина к кислороду (СГК)

[Глебов А.Н., Зинчук В.В., 2005]. Сведения о применении корвитина при ишемии-реперфузии нижних конечностей единичные и неоднозначные [Гапонова Т.И. и др., 2015].

В настоящей главе представлены данные об изменениях кислородтранспортной функции (КТФ), прооксидантно-антиоксидантного состояния (ПАС) и системы газотрансммиттеров (ГТ) венозной крови в условиях применения корвитина для предполагаемой коррекции РРС. В проведенное нами проспективное исследование показателей кислородного гомеостаза включены 118 пациентов мужского пола. Хроническую атеросклеротическую окклюзию поверхностной бедренной артерии (ПБА), соответствующую типу D по классификации трансатлантического международного консенсуса (TASC) II, имели 103 пациента со средним возрастом $60,24 \pm 0,83$ года, которые были разделены на 2 группы. В I группе 52 пациента получали традиционное медикаментозное сопровождение в общепринятых дозировках: инфузионная терапия раствором пентоксифиллина, антикоагулянтная – нефракционированным гепарином, антибактериальная – по показаниям, обезболивание. Пациентам II группы ($n=51$), кроме того за 20 минут до восстановления кровообращения и далее дважды в сутки, по восьмые включительно, проводилась внутривенная инфузия 500 мг лекарственного средства корвитин. В качестве способа реваскуляризации нижних конечностей у всех пациентов использовалось однотипное реконструктивное хирургическое вмешательство – ретроградной эверсионно-петлевой эндартерэктомии (РЭПЭАЭ) из ПБА. У всех исследуемых перед операцией, на 3-и и 8-е сутки после нее производился забор крови из вен локтевого сгиба и тыла стопы оперируемой нижней конечности для определения показателей КТФ, ПАС и содержания ГТ.

При изучении КТФ венозной крови у пациентов, получавших корвитин с момента реваскуляризации нижних конечностей (таблицы 1, 2, 3), выявлено, что на 3-и сутки послеоперационного периода увеличение значений pO_2 , sO_2 , $p50_{\text{реал}}$, лактата в крови, оттекающей от прооперированных нижних конечностей, по сравнению с исходными данными, не

так существенно, как в I группе наблюдений, хотя и достоверно ($p < 0,05$). И наоборот, рост показателей pH, $p\text{CO}_2$, HCO_3^- , ctHb, ABE к 3 суткам реперфузионного периода заметно опережает изменения соответствующих величин в I группе ($p < 0,05$). Менее выраженная венозная гипероксемия во II группе наблюдений на 3 сутки, как можно предположить, является следствием повышенной, по сравнению с I группой, утилизации кислорода ишемизированными тканями нижних конечностей на фоне применения корвитина. Клинически указанная тенденция проявлялась менее выраженными у пациентов группы II симптомами ишемии нижних конечностей после их реваскуляризации, смещением кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) влево после РЭПЭАЭ из ПБА в сопровождении инфузии корвитина, по сравнению с I группой.

Выявленные закономерности в дальнейшем нашли свое отражение и в уменьшении продолжительности периода реперфузионного ухудшения оксигенации тканей. К 8 суткам после операции в группе пациентов, получавших корвитин с момента восстановления кровообращения в нижних конечностях (II группа), значения всех указанных выше показателей КТФ венозной крови при исходной IIБ стадии хронической артериальной недостаточности нижних конечностей (ХАННК) несущественно отличались от соответствующих величин в группе здоровых лиц ($p > 0,05$). При III и IV стадиях исходной хронической ишемии на 8-е сутки различия показателей кислородтранспортной функции крови (КТФК) по отношению к здоровым лицам более выражены ($p < 0,05$). Однако и их значения были существенно лучше, чем собственные дооперационные ($p < 0,05$).

Таблица 1 – Показатели кислородтранспортной функции венозной крови нижних конечностей у пациентов со ПБ стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК ПБ стадии (n=31)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=13)	II группа (n=18)	I группа (n=13)	II группа (n=18)	I группа (n=13)	II группа (n=18)
pH, ед.	7,348±0,01	7,267±0,01*	7,267±0,01*	7,302±0,02*□	7,323±0,01□	7,318±0,02*□	7,346±0,01□
pCO ₂ , мм рт. ст.	49,91±0,90	40,82±0,84*	40,50±0,73*	43,33±0,37**	43,86±0,63*□	45,53±0,64*□	48,95±0,59□
pO ₂ , мм рт. ст.	29,43±0,85	36,88±1,24*	36,37±0,99*	50,98±1,09**	50,53±1,31*□	48,41±1,33*□	30,91±0,68□
ctHb, г/дл	15,67±0,26	15,98±0,27*	15,37±0,38*	13,79±0,23**	14,52±0,26*□	14,07±0,41*□	15,01±0,43□
sO ₂ , %	55,25±2,07	64,34±2,29*	64,40±1,78*	83,91±1,86**	81,34±2,54*□	75,01±2,07*□	55,48±2,76□
Лактат, ммоль/л	1,47±0,05	1,79±0,08*	1,81±0,07*	2,52±0,05**	1,98±0,07*□	2,28±0,08*□	1,53±0,08□
p50 _{реал} , мм рт.ст.	25,95±0,18	28,40±0,31*	28,35±0,39*	26,96±0,26**	26,68±0,35*□	26,79±0,33*□	25,88±0,46□
p50 _{ст} , мм рт. ст.	25,86±0,35	28,52±0,29*	28,61±0,33*	26,83±0,20**	26,88±0,40*□	26,76±0,33*□	25,92±0,53□
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,01±0,26	21,95±0,28*	21,94±0,39*	23,26±0,35**	23,13±0,39*□	23,89±0,48*□	25,52±0,37□
ABE, ммоль/л	0,71±0,26	-1,68±0,40*	-1,60±0,34*	-0,58±0,49**	-0,56±0,31*□	-0,14±0,29*□	0,50±0,28□
SBE, ммоль/л	1,02±0,29	-1,07±0,25*	-1,09±0,38*	-0,05±0,44**	0,05±0,35*□	0,03±0,32*□	0,99±0,43□

Примечание : Различия достоверны по отношению к здоровым лицам (p<0,05) – *; к дооперационным значениям при p<0,05 – □, при p<0,01 – *; к данными I группы (p<0,01) – □

Таблица 2 – Показатели кислородтранспортной функции венозной крови нижних конечностей у пациентов с III стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК III стадии (n=44)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=27)	II группа (n=17)	I группа (n=12)	II группа (n=17)	I группа (n=12)	II группа (n=17)
pH, ед.	7,348±0,01	7,254±0,01*	7,256±0,01*	7,286±0,01*□	7,324±0,01□	7,295±0,01*□	7,348±0,01□
pCO ₂ , мм рт. ст.	49,91±0,90	39,45±0,83*	39,52±0,79*	42,03±0,66**	42,92±0,54*□	44,96±0,31*□	48,78±0,49□
pO ₂ , мм рт. ст.	29,43±0,85	39,23±1,22*	39,48±1,32*	56,10±1,27**	52,79±1,48*□	52,15±0,78*□	31,08±0,70□
ctHb, г/дл	15,87±0,26	15,41±0,33*	15,12±0,43*	13,42±0,46**	14,15±0,52*□	13,93±0,27*□	15,15±0,17□
sO ₂ , %	55,25±2,07	69,58±1,89*	69,24±1,25*	87,59±1,81**	84,81±2,12*□	80,36±2,07*□	57,92±2,07□
Лактат, ммоль/л	1,47±0,05	1,98±0,10*	1,98±0,13*	2,63±0,05**	2,13±0,15*	2,33±0,11*□	1,46±0,11□
p50 _{реал} , мм рт. ст.	25,95±0,18	29,30±0,34*	29,46±0,35*	27,47±0,48**	27,25±0,43*□	27,39±0,44*□	25,94±0,44□
p50 _{ст} , мм рт. ст.	25,86±0,35	29,28±0,32*	29,24±0,36*	27,45±0,26**	27,44±0,23*□	27,37±0,27*□	26,05±0,47□
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,01±0,26	20,91±0,42*	20,98±0,41*	22,93±0,42**	24,12±0,55*□	23,47±0,41*□	25,26±0,35□
ABE, ммоль/л	0,71±0,26	-2,53±0,33*	-2,38±0,31*	-0,68±0,48**	-0,33±0,47*□	-0,36±0,48*□	0,31±0,28□
SBE, ммоль/л	1,02±0,29	-2,08±0,37*	-2,08±0,37*	-0,51±0,37**	-0,41±0,45*□	-0,40±0,50*□	0,80±0,29□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам ($p < 0,05$) – *; к дооперационным значениям при $p < 0,05$ – □, при $p < 0,01$ – ×; к данным I группы ($p < 0,01$) – □

Таблица 3 – Показатели кислородтранспортной функции венозной крови нижних конечностей у пациентов с IV стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК IV стадии (n=28)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=12)	II группа (n=16)	I группа (n=12)	II группа (n=16)	I группа (n=12)	II группа (n=16)
pH, ед.	7,348±0,01	7,243±0,01*	7,245±0,01*	7,267±0,01*□	7,323±0,01*□	7,274±0,01*□	7,342±0,01□
pCO ₂ , мм рт. ст.	49,91±0,90	38,58±0,53*	38,58±0,60*	41,03±0,58**	41,08±0,74*□	43,28±0,33*□	48,38±0,73□
pO ₂ , мм рт. ст.	29,43±0,85	45,22±1,36*	45,61±1,36*	67,18±1,61**	58,49±1,41*□	60,30±1,17*□	31,63±0,82□
ctHb, г/дл	15,87±0,26	13,32±0,27*	13,58±0,36*	10,98±0,48**	12,26±0,45*□	11,14±0,63*□	15,03±0,54□
sO ₂ , %	55,25±2,07	78,32±1,32*	78,36±1,80*	87,58±1,69**	86,48±1,82*□	83,24±1,78*□	58,63±2,67□
Лактат, ммоль/л	1,47±0,05	2,13±0,08*	2,11±0,09*	2,68±0,08**	2,20±0,09*	2,43±0,09*□	1,48±0,09□
p50 _{реал} , мм рт.ст.	25,95±0,18	30,15±0,44*	30,10±0,45*	28,04±0,66*□	27,77±0,49*□	27,96±0,33*□	26,07±0,33□
p50 _{ст} , мм рт. ст.	25,86±0,35	30,20±0,34*	30,15±0,33*	28,49±0,35**	27,98±0,30*□	28,04±0,39*□	26,38±0,41□
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	25,01±0,26	20,06±0,37*	20,06±0,46*	22,53±0,58**	23,82±0,47*□	23,04±0,25*□	25,05±0,55□
ABE, ммоль/л	0,71±0,26	-3,13±0,36*	-3,17±0,30*	-1,18±0,48**	-0,99±0,35*□	-0,72±0,49*□	0,16±0,41□
SBE, ммоль/л	1,02±0,29	-2,54±0,37*	-2,48±0,17*	-0,79±0,50*□	-0,76±0,37*□	-0,53±0,41*□	0,47±0,33□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам (p<0,05) – *; к дооперационным значениям при p<0,05 – □, при p<0,01 – **; к данным I группы (p<0,01) – □

Изменения показателей КТФ крови из вены локтевого сгиба у пациентов II группы в ишемический и реперфузионный периоды в целом по своей динамике были близки к значениям венозной крови нижних конечностей (таблицы 4, 5, 6), с той лишь разницей, что их колебания и соответствующие межгрупповые различия были несколько меньше. А при исходной IIБ стадии ХАННК значения показателей КТФК на 8-е сутки после операции не отличались от соответствующих у здоровых лиц ($p < 0,05$). Таким образом, применение корвитина в комплексном лечении пациентов с хронической окклюзией ПБА атеросклеротического генеза, перенесших реваскуляризацию нижних конечностей посредством РЭПЭАЭ, способствует на начальном этапе реперфузионного периода (3-и сутки) уменьшению гипероксемии, гипоксаемии, ацидоза и увеличению буферного резерва венозной крови, а также улучшение КТФ венозной крови к окончанию раннего послеоперационного периода (8-е сутки).

Выявленные к 3-м суткам после реваскуляризации хронически ишемизированных нижних конечностей у пациентов I группы существенная активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и угнетение антиоксидантной защиты, как выяснилось, подвергаются значительной коррекции при использовании в комплексном лечении с момента восстановления кровообращения лекарственного средства корвитин. У пациентов II группы на 3-и сутки после операции также отмечен рост концентрации продуктов ПОЛ и снижение антиоксидантного потенциала в плазме и эритроцитах венозной крови оперированных нижних конечностей по отношению к дооперационным значениям. Однако, эти изменения были менее значимыми по отношению к исходным данным ($p < 0,05$), а для ретинола – и вовсе несущественными ($p < 0,05$). Это при том, что в наблюдениях I группы содержание ретинола даже к окончанию раннего послеоперационного периода при III стадии было меньше дооперационных значений на 26,5%. При использовании корвитина уровень малонового диальдегида (МДА) в плазме, например, к 3-м суткам после реваскуляризации нижних конечностей у пациентов с исходной

ПБ стадией ХАННК увеличился лишь на 15,9% ($p<0,05$), с III стадией – на 11,8% ($p<0,05$), с IV – на 7,7% ($p<0,05$). Тогда как в I группе соответствующие различия составляли 42,9% при ПБ стадии ХАННК до операции, 39,6% – при III стадии и 33,2% – при IV ($p<0,05$ для всех стадий).

При дальнейшем наблюдении на фоне применения корвитина концентрация продуктов ПОЛ уменьшалась в плазме и эритроцитах венозной крови нижних конечностей, а показатели антиоксидантного потенциала прогрессивно росли. На 8-е сутки после операции все показатели ПАС у пациентов с исходной ПБ стадией ХАННК уже незначительно отличались от соответствующих в группе здоровых лиц ($p>0,05$). При III и IV стадиях исходной хронической ишемии нижних конечностей различия по отношению к здоровым лицам были более существенны ($p<0,05$), но и в этих наблюдениях показатели продуктов ПОЛ и антиоксидантной системы (АОС) были меньше собственных дооперационных ($p<0,05$).

Таблица 4 – Показатели кислородтранспортной функции крови вен локтевых сгибов у пациентов со ПБ стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК ПБ стадии (n=31)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=13)	II группа (n=18)	I группа (n=13)	II группа (n=18)	I группа (n=13)	II группа (n=18)
pH, ед.	7,349 $\pm$ 0,01	7,307 $\pm$ 0,01*	7,306 $\pm$ 0,01*	7,316 $\pm$ 0,01*	7,338 $\pm$ 0,01□	7,329 $\pm$ 0,01	7,350 $\pm$ 0,01□
pCO ₂ , мм рт.ст.	57,77 $\pm$ 0,55	54,98 $\pm$ 0,37*	54,83 $\pm$ 0,46*	55,37 $\pm$ 0,47*	56,83 $\pm$ 0,40□	56,02 $\pm$ 0,40*□	57,66 $\pm$ 0,65□
pO ₂ , мм рт. ст.	20,37 $\pm$ 0,50	21,43 $\pm$ 0,54*	21,45 $\pm$ 0,54*	23,36 $\pm$ 0,28*□	21,99 $\pm$ 0,63*	23,13 $\pm$ 0,26*□	20,36 $\pm$ 0,43□
ctHb, г/дл	15,98 $\pm$ 0,28	15,73 $\pm$ 0,33	15,63 $\pm$ 0,29	13,90 $\pm$ 0,27*□	14,20 $\pm$ 0,42*□	14,21 $\pm$ 0,44*□	15,54 $\pm$ 0,27□
sO ₂ , %	25,32 $\pm$ 0,49	27,01 $\pm$ 0,41*	27,04 $\pm$ 0,47*	28,82 $\pm$ 0,21*□	27,62 $\pm$ 0,48*	28,45 $\pm$ 0,42*□	25,61 $\pm$ 0,49□
Лактат, ммоль/л	1,75 $\pm$ 0,07	1,91 $\pm$ 0,07*	1,94 $\pm$ 0,07*	2,23 $\pm$ 0,07*□	2,21 $\pm$ 0,09*□	2,15 $\pm$ 0,05*□	1,86 $\pm$ 0,09□
p50 _{реал} , мм рт. ст.	27,88 $\pm$ 0,37	32,52 $\pm$ 0,25*	32,62 $\pm$ 0,46*	31,33 $\pm$ 0,25*□	30,99 $\pm$ 0,48*□	31,07 $\pm$ 0,40*□	28,04 $\pm$ 0,40□
p50 _{ст} , мм рт. ст.	27,67 $\pm$ 0,50	32,22 $\pm$ 0,45*	32,21 $\pm$ 0,43*	30,34 $\pm$ 0,52*□	30,10 $\pm$ 0,50*□	30,01 $\pm$ 0,31*□	27,88 $\pm$ 0,32□
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	28,00 $\pm$ 0,36	25,01 $\pm$ 0,50*	24,99 $\pm$ 0,41*	26,40 $\pm$ 0,48*□	26,22 $\pm$ 0,39*□	26,57 $\pm$ 0,39*□	27,87 $\pm$ 0,19□
ABE, ммоль/л	1,25 $\pm$ 0,31	-0,52 $\pm$ 0,37*	-0,51 $\pm$ 0,32*	-0,15 $\pm$ 0,50*	0,49 $\pm$ 0,30*□	0,15 $\pm$ 0,40*	1,14 $\pm$ 0,39□
SBE, ммоль/л	2,38 $\pm$ 0,23	0,30 $\pm$ 0,34*	0,31 $\pm$ 0,33*	1,02 $\pm$ 0,44*	1,44 $\pm$ 0,30*□	1,37 $\pm$ 0,36*□	2,19 $\pm$ 0,34□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам (p<0,05) – *, к дооперационным значениям (p< 0,05) – □, к данными I группы (p<0,01) – □

Таблица 5 – Показатели кислородтранспортной функции крови вен локтевых сгибов у пациентов с III стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК III стадии (n=44)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=27)	II группа (n=17)	I группа (n=12)	II группа (n=17)	I группа (n=12)	II группа (n=17)
pH, ед.	7,349±0,01	7,296±0,01*	7,297±0,01*	7,309±0,01*	7,339±0,01□	7,318±0,01*□	7,347±0,01□
pCO ₂ , мм рт. ст.	57,77±0,55	54,23±0,54*	54,21±0,62*	55,18±0,52*	56,50±0,61*□	55,96±0,45*□	57,44±0,55□
pO ₂ , мм рт. ст.	20,37±0,50	22,68±0,22*	22,63±0,54*	24,76±0,27*□	23,09±0,61*	24,43±0,30*□	20,69±0,68□
ctHb, г/дл	15,98±0,28	15,06±0,45*	15,08±0,31*	13,32±0,50*□	13,83±0,62*□	13,83±0,28*□	15,26±0,50□
sO ₂ , %	25,32±0,49	27,64±0,61*	27,59±0,53*	29,56±0,41*□	28,12±0,54*	29,23±0,28*□	25,84±0,50□
Лактат, ммоль/л	1,75±0,07	2,07±0,08*	2,09±0,08*	2,43±0,09*□	2,28±0,09*□	2,29±0,08*□	1,89±0,09□
p50 _{реал} , мм рт.ст	27,88±0,37	33,38±0,24*	33,34±0,33*	32,02±0,39*□	30,96±0,45*□	31,78±0,28*□	28,27±0,37□
p50 _{ст} , мм рт. ст.	27,67±0,50	33,29±0,70*	33,25±0,51*	31,35±0,71*□	31,16±0,53*□	31,05±0,48*□	28,35±0,35□
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	28,00±0,36	24,11±0,34*	24,04±0,35*	25,81±0,53*□	26,03±0,40*□	26,03±0,33*□	27,51±0,34□
ABE, ммоль/л	1,25±0,31	-1,09±0,38*	-1,06±0,28*	-0,28±0,47*□	0,13±0,38*□	-0,05±0,48*□	1,01±0,26□
SBE, ммоль/л	2,38±0,23	0,03±0,30*	0,00±0,29*	0,88±0,40*□	1,29±0,39*□	1,14±0,37*□	2,07±0,35□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам ($p < 0,05$) – *, к дооперационным значениям ($p < 0,05$) – □, к данным I группы ($p < 0,01$) – □

Таблица 6 – Показатели кислородтранспортной функции крови вен локтевых сгибов у пациентов с IV стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК IV стадии (n=28)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=12)	II группа (n=16)	I группа (n=12)	II группа (n=16)	I группа (n=12)	II группа (n=16)
pH, ед.	7,349 $\pm$ 0,01	7,284 $\pm$ 0,01*	7,283 $\pm$ 0,01*	7,294 $\pm$ 0,01*	7,337 $\pm$ 0,01□	7,308 $\pm$ 0,01*	7,349 $\pm$ 0,01□
pCO ₂ , мм рт. ст.	57,77 $\pm$ 0,55	53,81 $\pm$ 0,54*	53,76 $\pm$ 0,61*	55,01 $\pm$ 0,55*□	56,11 $\pm$ 0,61*□	55,68 $\pm$ 0,59*□	57,38 $\pm$ 0,62□
pO ₂ , мм рт. ст.	20,37 $\pm$ 0,50	24,13 $\pm$ 0,37*	24,16 $\pm$ 0,54*	25,77 $\pm$ 0,33*□	24,37 $\pm$ 0,68*	25,24 $\pm$ 0,20*□	20,90 $\pm$ 0,54□
ctHb, г/дл	15,98 $\pm$ 0,28	14,07 $\pm$ 0,39*	13,98 $\pm$ 0,31*	12,59 $\pm$ 0,85*□	13,13 $\pm$ 0,54*	13,33 $\pm$ 0,67*	15,03 $\pm$ 0,42□
sO ₂ , %	25,32 $\pm$ 0,49	28,19 $\pm$ 0,58*	28,07 $\pm$ 0,37*	30,28 $\pm$ 0,41*□	28,96 $\pm$ 0,47*	29,85 $\pm$ 0,47*□	25,91 $\pm$ 0,46□
Лактат, ммоль/л	1,75 $\pm$ 0,07	2,23 $\pm$ 0,07*	2,23 $\pm$ 0,09*	2,54 $\pm$ 0,09*□	2,46 $\pm$ 0,07*□	2,48 $\pm$ 0,08*□	1,90 $\pm$ 0,08□
p50 _{реал} , мм рт. ст.	27,88 $\pm$ 0,37	34,03 $\pm$ 0,37*	34,07 $\pm$ 0,39*	32,68 $\pm$ 0,43*□	31,12 $\pm$ 0,51*□	32,45 $\pm$ 0,27*□	28,09 $\pm$ 0,39□
p50 _{ст} , мм рт. ст.	27,67 $\pm$ 0,50	33,92 $\pm$ 0,42*	33,98 $\pm$ 0,52*	31,61 $\pm$ 0,75*□	31,56 $\pm$ 0,46*□	31,33 $\pm$ 0,55*□	28,07 $\pm$ 0,31□
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	28,00 $\pm$ 0,36	23,44 $\pm$ 0,48*	23,25 $\pm$ 0,38*	25,12 $\pm$ 0,50*□	25,66 $\pm$ 0,56*□	25,63 $\pm$ 0,52*□	27,26 $\pm$ 0,40□
ABE, ммоль/л	1,25 $\pm$ 0,31	-1,52 $\pm$ 0,30*	-1,48 $\pm$ 0,43*	-0,53 $\pm$ 0,40*□	0,04 $\pm$ 0,28*□	-0,30 $\pm$ 0,48*□	0,91 $\pm$ 0,21□
SBE, ммоль/л	2,38 $\pm$ 0,23	-0,61 $\pm$ 0,32*	-0,64 $\pm$ 0,31*	0,61 $\pm$ 0,35*□	1,05 $\pm$ 0,27*□	1,03 $\pm$ 0,33*□	1,96 $\pm$ 0,40□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам (p<0,05) – *, к дооперационным значениям (p< 0,05) – □, к данным I группы (p<0,01) – □

Изменения показателей ПАС крови вен локтевого сгиба у пациентов обеих групп наблюдений имели близкую динамику к соответствующим значениям в крови, оттекающей от нижних конечностей (табл. 7,8,9). Вместе с тем, относительное увеличение содержания продуктов ПОЛ и относительное снижение уровня антиоксидантной защиты в плазме и эритроцитах крови вен предплечья при соответствующих стадиях исходной ХАННК были менее значимыми, чем в венозной крови оперируемых нижних конечностей. Представляется важным отметить, что при назначении пациентам корвитина к 8-м суткам показатели ПАС крови из вены локтевого сгиба при всех стадиях ХАННК практически не отличались от соответствующих в группе здоровых лиц ($p > 0,05$).

Таким образом, применение корвитина в комплексном лечении пациентов с хронической атеросклеротической окклюзией ПБА, перенесших РЭПЭАЭ, способствует снижению содержания в венозной крови продуктов ПОЛ и росту антиоксидантного потенциала к 3-м суткам после операции и относительной нормализации ПАС к окончанию раннего послеоперационного периода (8-е сутки). Влияние лекарственных препаратов антиоксидантного действия на повышенную концентрацию ГТ NO и H_2S в крови после восстановления кровообращения в нижних конечностях представляет интерес в связи с недостаточным объемом исследований по этой проблеме и с учетом того, что изменения содержания обоих исследуемых нами газотрансмиттеров в ответ на реперфузию наиболее существенны по сравнению со всеми другими показателями кислородного гомеостаза. Как у пациентов I группы, так и при применении корвитина (II группа) содержание NO_3^-/NO_2^- в плазме крови, оттекающей от нижних конечностей, в которых восстановлено кровообращение, в первые сутки растет. Несмотря на достоверность увеличения содержания метаболитов монооксида азота (NO) по сравнению с предоперационным периодом ($p < 0,05$), к 3-м суткам после операции значения NO_3^-/NO_2^- в венозной крови нижних конечностей были существенно ниже, чем у пациентов I группы. Это снижение, произошедшее под воздействием корвитина, составило 9,6% при исходной IIБ стадии ХАННК, 10,0% – при III стадии, 11,1% – при IV ($p < 0,05$ для всех стадий).

Таблица 7 – Показатели ПОЛ и АО в крови вен локтевых сгибов у пациентов со ПБ стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I гр.) и применении корвитина (II гр.) (M±m)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК ПБ стадии (n=31)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=13)	II группа (n=18)	I группа (n=13)	II группа (n=18)	I группа (n=13)	II группа (n=18)
ДК _{пл} , ΔD ₂₃₃ /мл	0,75±0,04	1,33±0,09*	1,34±0,06*	1,83±0,07*□	1,51±0,07*□	1,64±0,05*□	0,78±0,02□
ТК _{пл} , ΔD ₂₇₈ /мл	0,29±0,03	0,42±0,05*	0,42±0,03*	0,60±0,05*□	0,51±0,02*□	0,56±0,03*□	0,30±0,02□
МДА _{пл} , ммоль/л	1,95±0,08	2,11±0,07*	2,13±0,09*	2,40±0,09*□	2,37±0,07*□	2,36±0,06*□	2,03±0,06□
ДК _{эр} , ΔD ₂₃₃ /мл	15,92±0,39	17,71±0,47*	17,94±0,41*	19,37±0,19*□	18,52±0,43*	19,16±0,32*□	15,99±0,46□
ТК _{эр} , ΔD ₂₇₈ /мл	8,23±0,43	9,36±0,40*	9,16±0,41*	10,69±0,34*□	9,88±0,47*	10,45±0,42*□	8,20±0,36□
МДА _{эр} , ммоль/л	6,23±0,33	7,48±0,35*	7,49±0,50*	9,47±0,47*□	8,23±0,45*	9,22±0,29*□	6,26±0,37□
Церулоплазмин, мг/л	375,73±9,55	320,85±8,47*	315,72±6,83*	277,54±8,18*□	298,28±6,63*□	283,92±3,94*□	366,94±4,78□
α-токоферол, мкмоль/л	14,40±0,33	13,43±0,48*	13,34±0,60*	10,91±0,29*□	12,05±0,58*□	11,27±0,48*□	14,35±0,46□
Ретинол, мкмоль/л	1,00±0,02	0,89±0,03*	0,89±0,05*	0,68±0,04*□	0,79±0,05*	0,73±0,03*□	1,00±0,04□
Глутатион, мкмоль/г Нб	32,43±0,59	29,82±0,29*	29,33±0,36*	27,73±0,44*□	27,88±0,32*□	27,91±0,39*□	32,10±0,45□
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г Нб	46,08±0,50	44,05±0,40*	44,01±0,47*	42,10±0,36*□	42,99±0,48*□	42,29±0,39*□	45,72±0,31□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам (p<0,05) – *, к дооперационным значениям (p< 0,05) – □, к данным I группы (p<0,01) – □

Таблица 8 – Показатели ПОЛ и АО в крови вен локтевых сгибов у пациентов с III стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I гр.) и применении корвитина (II гр.) (M±m)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК ПБ стадии (n=44)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=27)	II группа (n=17)	I группа (n=12)	II группа (n=17)	I группа (n=12)	II группа (n=17)
ДК _{пл} , ΔD ₂₃₃ /мл	0,75±0,04	1,66±0,09*	1,66±0,08*	2,06±0,06*□	1,76±0,06*	1,97±0,05*□	0,82±0,04□
ТК _{пл} , ΔD ₂₇₈ /мл	0,29±0,03	0,51±0,04*	0,50±0,03*	0,64±0,02*□	0,55±0,05*	0,61±0,03*□	0,32±0,03□
МДА _{пл} , ммоль/л	1,95±0,08	2,28±0,09*	2,22±0,07*	2,61±0,06*□	2,54±0,08*□	2,56±0,05*□	2,06±0,07□
ДК _{эр} , ΔD ₂₃₃ /мл	15,92±0,39	18,10±0,45*	18,24±0,33*	19,91±0,27*□	19,01±0,48*	19,46±0,33*□	16,12±0,24□
ТК _{эр} , ΔD ₂₇₈ /мл	8,23±0,43	9,74±0,33*	9,70±0,49*	11,50±0,30*□	10,32±0,47*	11,30±0,35*□	8,29±0,35□
МДА _{эр} , ммоль/л	6,23±0,33	8,07±0,45*	8,01±0,49*	11,18±0,34*□	9,68±0,43*□	10,82±0,36*□	6,47±0,32□
Церулоплазмин, мг/л	375,73±9,55	293,08±8,00*	299,53±7,83*	256,83±6,79*□	270,53±7,45*□	268,17±5,78*□	364,82±4,99□
α-токоферол, мкмоль/л	14,40±0,33	12,10±0,44*	12,21±0,57*	9,15±0,50*□	10,93±0,57*□	9,66±0,39*□	14,08±0,38□
Ретинол, мкмоль/л	1,00±0,02	0,81±0,04*	0,82±0,08*	0,60±0,04*□	0,72±0,05*	0,67±0,03*□	0,99±0,03□
Глутатион, мкмоль/г Нб	32,43±0,59	28,02±0,38*	28,04±0,24*	25,98±0,48*□	26,74±0,44*□	26,27±0,46*□	31,98±0,50□
Каталаза, ммоль Н ₂ О ₂ /мин/г Нб	46,08±0,50	43,12±0,49*	43,23±0,49*	41,09±0,28*□	42,03±0,42*□	41,37±0,43*□	45,54±0,42□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам (p< 0,05) – *, к дооперационным значениям (p< 0,05) – □, к данным I группы (p<0,01) – □

Таблица 9 – Показатели ПОЛ и АО в крови вен локтевых сгибов у пациентов с IV стадией ХАННК при традиционном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА (I группа) и применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Здоровые лица (n=15)	ХАННК IIБ стадии (n=28)					
		До операции		3 сутки		8 сутки	
		I группа (n=12)	II группа (n=16)	I группа (n=12)	II группа (n=16)	I группа (n=12)	II группа (n=16)
ДК _{пл} , $\Delta D_{233}/\text{мл}$	0,75 $\pm$ 0,04	1,92 $\pm$ 0,05*	1,85 $\pm$ 0,08*	2,30 $\pm$ 0,09*□	1,90 $\pm$ 0,06*	2,18 $\pm$ 0,06*□	0,85 $\pm$ 0,07□
ТК _{пл} , $\Delta D_{278}/\text{мл}$	0,29 $\pm$ 0,03	0,60 $\pm$ 0,03*	0,60 $\pm$ 0,03*	0,74 $\pm$ 0,03*□	0,67 $\pm$ 0,04*	0,70 $\pm$ 0,03*□	0,35 $\pm$ 0,02□
МДА _{пл} , ммоль/л	1,95 $\pm$ 0,08	2,53 $\pm$ 0,09*	2,49 $\pm$ 0,09*	2,90 $\pm$ 0,06*□	2,77 $\pm$ 0,09*□	2,80 $\pm$ 0,08*□	2,04 $\pm$ 0,05□
ДК _{эр} , $\Delta D_{233}/\text{мл}$	15,92 $\pm$ 0,39	19,52 $\pm$ 0,49*	19,61 $\pm$ 0,49*	21,44 $\pm$ 0,36*□	19,96 $\pm$ 0,45*	21,01 $\pm$ 0,32*□	16,51 $\pm$ 0,30□
ТК _{эр} , $\Delta D_{278}/\text{мл}$	8,23 $\pm$ 0,43	10,50 $\pm$ 0,50*	10,16 $\pm$ 0,49*	12,47 $\pm$ 0,45*□	10,92 $\pm$ 0,46*	12,21 $\pm$ 0,38*□	8,70 $\pm$ 0,30□
МДА _{эр} , ммоль/л	6,23 $\pm$ 0,33	9,37 $\pm$ 0,49*	9,71 $\pm$ 0,47*	11,81 $\pm$ 0,33*□	9,99 $\pm$ 0,46*	11,24 $\pm$ 0,40*□	6,61 $\pm$ 0,45□
Церулоплазмин, мг/л	375,73 $\pm$ 9,55	265,17 $\pm$ 7,36*	267,81 $\pm$ 7,57*	236,67 $\pm$ 3,98*□	250,56 $\pm$ 5,89*□	240,17 $\pm$ 5,01*□	359,50 $\pm$ 7,03□
α -токоферол, мкмоль/л	14,40 $\pm$ 0,33	10,89 $\pm$ 0,61*	10,86 $\pm$ 0,54*	8,19 $\pm$ 0,42*□	9,98 $\pm$ 0,63*	8,73 $\pm$ 0,41*□	13,99 $\pm$ 0,30□
Ретинол, мкмоль/л	1,00 $\pm$ 0,02	0,76 $\pm$ 0,03*	0,77 $\pm$ 0,05*	0,56 $\pm$ 0,03*□	0,71 $\pm$ 0,03*	0,60 $\pm$ 0,04*□	0,96 $\pm$ 0,04□
Глутатион, мкмоль/г Hb	32,43 $\pm$ 0,59	27,25 $\pm$ 0,49*	27,33 $\pm$ 0,49*	24,99 $\pm$ 0,47*□	25,41 $\pm$ 0,47*□	25,17 $\pm$ 0,39*□	31,77 $\pm$ 0,50□
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г Hb	46,08 $\pm$ 0,50	42,40 $\pm$ 0,42*	42,53 $\pm$ 0,47*	40,05 $\pm$ 0,32*□	41,56 $\pm$ 0,49*	40,42 $\pm$ 0,37*□	45,35 $\pm$ 0,29□

Примечание: Различия достоверны по отношению к здоровым лицам ($p < 0,05$) – *, к дооперационным значениям ($p < 0,05$) – □, к данными I группы ($p < 0,01$) – □

Изменение концентрации сероводорода в плазме крови, отекающей от нижних конечностей, после восстановления магистрального артериального притока под воздействием корвитина, была близка к динамике показателей нитрат/нитритов. К 3-м суткам раннего послеоперационного периода у пациентов II группы снижение содержания H_2S по отношению к группе I составило при IIБ стадии ХАННК 8,9%, при III стадии – 9,3%, при IV – 9,4% ($p < 0,05$ для всех стадий).

Дальнейшее исследование выявило противоположные тенденции процессов продукции NO и сероводорода (H_2S) в организме при реперфузии-реоксигенации в обеих группах наблюдений. Так, если в I группе содержание нитрат/нитритов и сероводорода в плазме венозной крови нижних конечностей после 3-х суток продолжило рост, то во II концентрация обоих ГТ уменьшалась вплоть до окончания раннего послеоперационного периода. При применении корвитина к 8-м суткам после операции значения NO_3^-/NO_2^- и H_2S не только вернулись к исходным, но и снизились до величин, приближающимся к соответствующим в группе здоровых лиц, а при исходной IIБ стадии хронической артериальной недостаточности нижних конечностей и вовсе несущественно от них отличались ($p > 0,05$). Возможно, корвитин уменьшает повреждающее воздействие реперфузии-реоксигенации на эндотелий, чем препятствует активации эндотелиальной NO-синтазы (NOS) и гиперпродукции монооксида азота. Обращает на себя внимание взаимосвязь изменений обоих газотрансмиттеров после восстановления кровообращения в нижней конечности. Эта закономерность характеризует пересечение сигнальных путей, запускаемых NO и H_2S на общих эффекторах. Такое взаимодействие ГТ между собой может определять результирующий функциональный ответ организма [Муравьев А.В., 2021]. Изменения содержания газотрансмиттеров NO и H_2S в крови вен локтевого сгиба у пациентов с хронической атеросклеротической окклюзией поверхностной бедренной артерии при применении корвитина от момента реваскуляризации нижней конечности методом ретроградной эверсионно-петлевой эндартерэктомии из

поверхностной бедренной артерии в целом были близки к их динамике в венозной крови оперированных нижних конечностей (таблица 10), и амплитуда их колебаний, и межгрупповые различия были не менее существенными. Следует отметить лишь менее выраженные относительные изменения показателей содержания сероводорода по сравнению с соответствующими для нитрат/нитритов.

Таблица 10 – Содержание газотрансмиттеров в плазме крови вен локтевых сгибов у пациентов с хронической атеросклеротической окклюзией поверхностной бедренной артерии после РЭПЭАЭ при применении корвитина (II группа) ($M \pm m$)

Показатель	Стадия ХАННК (n=51)					
	ИБ (n=18)		III (n=17)		IV (n=16)	
	3 сутки	8 сутки	3 сутки	8 сутки	3 сутки	8 сутки
$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$, мкмоль/л	9,65± ±0,60*	5,91± ±0,34 [×]	9,82± ±0,73*	6,52± ±0,40 [×]	10,68± ±0,33*	6,78± ±0,43 [×]
H_2S , мкмоль/л	18,75± ±0,85*	16,73± ±0,83 [×]	20,73± ±0,93*	17,77± ±0,41 [×]	23,02± ±0,95*	18,10± ±0,61 [×]

Примечание: Различия достоверны по отношению к пациентам, у которых было традиционное медикаментозное сопровождение: * – при $p < 0,05$; [×] – при $p < 0,01$

Таким образом, применение корвитина в комплексном лечении пациентов с хронической атеросклеротической окклюзией поверхностной бедренной артерии, перенесших ретроградную эверсионно-петлевую эндартерэктомию, способствует уменьшению содержания в венозной крови нитрат/нитритов и сероводорода к 3-м суткам реперфузионного периода, а также – относительной нормализации системы ГТ к окончанию раннего послеоперационного периода. Изменения параметров кислородного гомеостаза в ранней фазе реперфузионно-реоксигенационного периода (первые 3-е суток) по своему характеру соответствуют их нарушениям при нарастании стадии ишемии до восстановления кровообращения в нижних конечностях с той разницей, что после

реваскуляризации эти процессы значительно ускоряются. Принимая во внимание то, что корректирующее влияние корвитина на КТФ, ПАС и систему ГТ венозной крови после операции реализуется после некоторого периода, возможно, его позитивное действие на кислородное обеспечение и в период хронической ишемии. В связи с этим, было проведено проспективное исследование показателей КТФ, ПАС и системы ГТ венозной крови нижних и верхних конечностей у пациентов с хронической атеросклеротической окклюзией ПБА, у которых корвитин начинал применяться за несколько суток до артериальной реконструкции.

В исследование включено 59 мужчин со средним возрастом $60,54 \pm 0,73$ года. 44 пациента имели хроническую атеросклеротическую окклюзию ПБА с III стадией ХАННК по классификации Фонтейна-Покровского при лодыжечно-плечевом индексе (ЛПИ) $0,44 \pm 0,03$. Пациенты группы I ($n=12$) получали традиционное медикаментозное лечение. В группе II ($n=17$) кроме этого назначался корвитин внутривенно по 500 мг через 12 часов с момента реваскуляризации по 8-е сутки после операции включительно. Пациентам группы III ($n=15$) корвитин в указанных дозировке начинали применять за 3-е суток до реваскуляризации и продолжали вплоть до окончания раннего послеоперационного периода (8-е сутки). Всем пациентам восстановление кровообращения в нижних конечностях осуществлялось одностипной артериальной реконструкцией: ретроградной эверсионно-петлевой эндартерэктомией из поверхностной бедренной артерии. За 3-е суток до операции, в день хирургического вмешательства, на 3-и и 8-е сутки послеоперационного периода производился забор крови из вен локтевого сгиба и тыла стопы оперируемых нижних конечностей. В таблице 6.11 представлены данные КТФ венозной крови оперируемых нижних конечностей в III группе.

Таблица 11 – Показатели кислородтранспортной функции венозной крови нижних конечностей у пациентов с III стадией ХАННК, обусловленной атеросклеротической окклюзией поверхностной бедренной артерии, при назначении корвитина за 3 суток до РЭПЭАЭ (группа III, n=15) ($M \pm m$)

Показатель	Срок наблюдения			
	3 сутки до операции	2-3 часа до операции	3 сутки после операции	8 сутки после операции
pH, ед.	7,255 $\pm$ 0,01*	7,316 $\pm$ 0,01*°	7,339 $\pm$ 0,01*	7,349 $\pm$ 0,01
pCO ₂ , мм рт. ст.	39,47 $\pm$ 0,63*	44,24 $\pm$ 0,65*°	48,01 $\pm$ 0,56*°	49,80 $\pm$ 0,48°
pO ₂ , мм рт. ст.	39,56 $\pm$ 0,72*	34,91 $\pm$ 1,11*°	39,61 $\pm$ 0,94*°	29,57 $\pm$ 0,46°
ctHb, г/дл	15,07 $\pm$ 0,23*	15,21 $\pm$ 0,18*°	15,00 $\pm$ 0,35*°	15,63 $\pm$ 0,27°
sO ₂ , %	69,32 $\pm$ 1,27*	62,96 $\pm$ 1,17*°	71,341,74*°	55,74 $\pm$ 0,99°
Лактат, ммоль/л	1,99 $\pm$ 0,10*	1,69 $\pm$ 0,10*°	1,77 $\pm$ 0,07*°	1,47 $\pm$ 0,10
p50 _{реал} , мм рт. ст.	29,48 $\pm$ 0,59*	28,14 $\pm$ 0,42*°	26,08 $\pm$ 0,48*°	25,85 $\pm$ 0,64
p50 _{ст} , мм рт. ст.	29,27 $\pm$ 0,30*	28,21 $\pm$ 0,38*°	26,16 $\pm$ 0,44*°	25,74 $\pm$ 0,43
HCO ₃ ⁻ , ммоль/л	21,03 $\pm$ 0,58*	21,96 $\pm$ 0,46*°	24,99 $\pm$ 0,42*	24,92 $\pm$ 0,54
ABE, ммоль/л	-2,27 $\pm$ 0,34*	-1,79 $\pm$ 0,34*°	0,66 $\pm$ 0,21*°	0,75 $\pm$ 0,25
SBE, ммоль/л	-2,06 $\pm$ 0,32*	-1,19 $\pm$ 0,31*°	0,91 $\pm$ 0,33*°	1,05 $\pm$ 0,30

Примечание: Различия достоверны по отношению к представленным в таблице 2 данным здоровых лиц – *, данным групп I и II – ° ($p < 0,05$)

Как следует из сравнительного анализа показателей КТФ венозной крови нижних конечностей в группе III, корвитин оказывает на них выраженное коррегирующее воздействие и в период хронической ишемии. При предварительном назначении этого препарата к моменту операции проявления гипероксемии, гипокapнемии и ацидоза существенно ниже, чем в группах I и II ($p < 0,05$), что и предопределяет их меньшее развитие в реперфузионный период. Рост показателей pO_2 , sO_2 к 3-м суткам после операции зафиксирован, но менее выраженный, чем в сравниваемых группах ($p < 0,05$), что свидетельствует о более эффективной утилизации кислорода тканями. В отличие от пациентов, получавших корвитин лишь с момента операции (группа II), в группе III к окончанию раннего послеоперационного периода все показатели КТФК несущественно отличаются от соответствующих у здоровых лиц ($p > 0,05$). На рис. 1 представлено изменение pO_2 при различном медикаментозном сопровождении РЭПЭАЭ из ПБА.

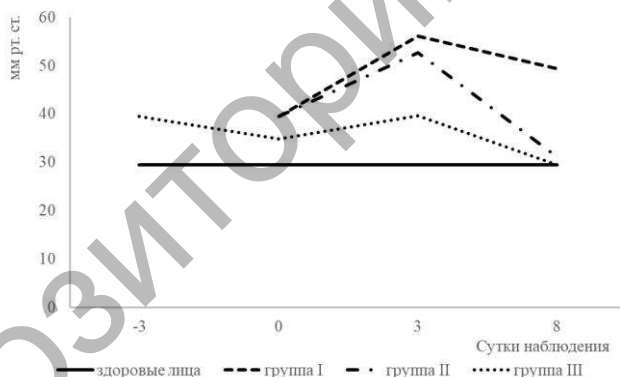


Рисунок 1 – Изменения pO_2 в венозной крови нижних конечностей при различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.

Как следует из анализа изменений показателей КТФК, при назначении корвитина за 3-е суток до реваскуляризации (группа III), значения гипероксемии, гипокapнемии и ацидоза

венозной крови нижних конечностей в течение всего периода наблюдения существенно ниже, чем при иных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ из ПБА, что согласуется со степенью выраженности клинических проявлений РРС и находится в связи с изменениями показателей ПАС и системы ГТ в соответствующие сроки.

Особенно важным представляется относительная нормализация показателей кислородного гомеостаза к моменту восстановления кровообращения в нижних конечностях. Под воздействием корвитина хронически ишемизированные ткани становятся более подготовленными к ожидающему их после реваскуляризации окислительному стрессу. Это благоприятно отражается на течении послеоперационного периода, значительно уменьшает степень выраженности ишемии реваскуляризованных нижних конечностей и их реперфузионных повреждений. В таблице 12 представлены значения продуктов ПОЛ и антиоксидантной защиты в крови вен оперируемых нижних конечностей при назначении корвитина за 3-е суток до реваскуляризации.

Как следует из данной таблицы, при назначении корвитина за 3-е суток до сосудистой реконструкции ишемизированные нижние конечности к моменту реваскуляризации оказываются более подготовленными к предстоящей реперфузии-реоксигенации за счет существенного, по отношению к группам I и II, снижения в оттекающей от нее крови содержания продуктов ПОЛ и повышения антиоксидантного потенциала ($p < 0,05$).

В отличие от иных вариантов медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ, при предварительном назначении корвитина (группа III) у пациентов с исходной III стадией ХАННК к окончанию раннего послеоперационного периода показатели ПАС несущественно отличались от группы здоровых лиц ($p > 0,05$).

Таблица 12 – Показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния венозной крови нижних конечностей у пациентов с III стадией ХАННК, обусловленной атеросклеротической окклюзией ПБА, при назначении корвитина за 3-е суток до РЭПЭАЭ (группа III, n=15) ($M \pm m$)

Показатель	Срок наблюдения			
	3 сутки до операции	2-3 часа до операции	3 сутки после операции	8 суток после операции
ДК _{пл} , ΔD_{233} /мл	2,36 $\pm$ 0,10*	1,79 $\pm$ 0,07*	1,95 $\pm$ 0,10*°	1,07 $\pm$ 0,07°
ТК _{пл} , ΔD_{278} /мл	0,61 $\pm$ 0,04*	0,49 $\pm$ 0,04*	0,57 $\pm$ 0,04*°	0,43 $\pm$ 0,02°
МДА _{пл} , ммоль/л	2,21 $\pm$ 0,04*	1,63 $\pm$ 0,08*	2,07 $\pm$ 0,09*°	1,09 $\pm$ 0,07°
ДК _{эр} , ΔD_{233} /мл	19,77 $\pm$ 0,64*	18,06 $\pm$ 0,61*	19,12 $\pm$ 0,70*	16,63 $\pm$ 0,58
ТК _{эр} , ΔD_{278} /мл	10,30 $\pm$ 0,49*	9,48 $\pm$ 0,37*°	9,84 $\pm$ 0,51*°	8,22 $\pm$ 0,35°
МДА _{эр} , ммоль/л	12,08 $\pm$ 0,49*	8,60 $\pm$ 0,46*	10,99 $\pm$ 0,69*°	5,23 $\pm$ 0,39°
Церулоплазмин, мг/л	291,07 $\pm$ 8,65*	339,67 $\pm$ 10,54*°	312,60 $\pm$ 8,74*°	382,40 $\pm$ 5,84°
α -токоферол, мкмоль/л	11,33 $\pm$ 0,35*	13,18 $\pm$ 0,64*	11,33 $\pm$ 0,61*°	15,18 $\pm$ 0,59°
Ретинол, мкмоль/л	0,68 $\pm$ 0,07*	0,82 $\pm$ 0,07*°	0,80 $\pm$ 0,06*°	0,93 $\pm$ 0,07°
GSH, мкмоль/г Hb	20,24 $\pm$ 0,55*	25,99 $\pm$ 0,66*°	22,37 $\pm$ 0,60*°	30,43 $\pm$ 0,92°
Каталаза, ммоль H ₂ O ₂ /мин/г Hb	44,42 $\pm$ 0,66*	45,99 $\pm$ 0,60*	44,82 $\pm$ 0,83*	47,47 $\pm$ 0,81°

Примечание: Различия достоверны по отношению к данным здоровых лиц – *, данным групп I и II – ° ($p < 0,05$)

На рис. 2 приведено изменение содержания диеновых конъюгатов (ДК) в плазме венозной крови нижних конечностей при различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.

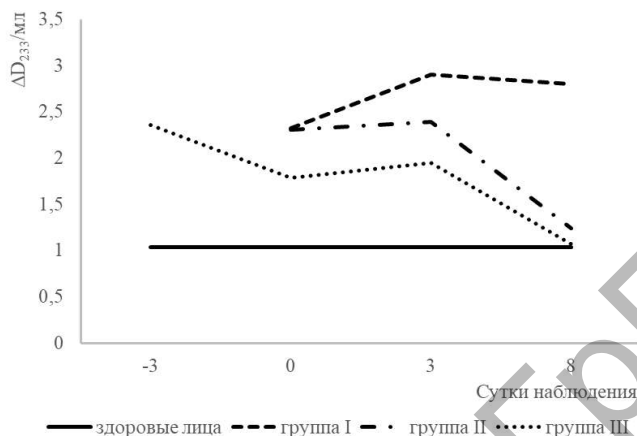


Рисунок 2 – Изменения содержания ДК в плазме венозной крови нижних конечностей при различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.

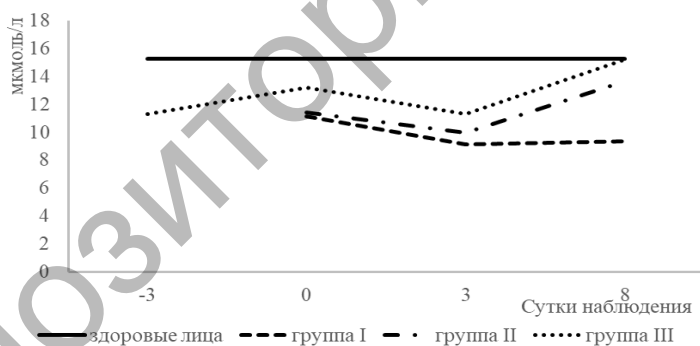


Рисунок 3 – Изменения содержания α-токоферола в плазме венозной крови нижних конечностей при различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.

На рис. 3 представлена динамика изменения содержания α-токоферола в плазме венозной крови нижних конечностей при

различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.

Мобилизация АОС до реваскуляризации нижних конечностей у пациентов группы III приводит к снижению активности процессов пероксидации липидов в период реперфузии-реоксигенации, что, в свою очередь, увеличивает эффективность оксигенации ишемизированных тканей и улучшает КТФК. Существенное снижение ($p < 0,05$) к моменту операции в плазме крови, оттекающей от нижних конечностей, содержания H_2S и метаболитов NO у пациентов группы III иллюстрирует лучшую подготовленность ишемизированных тканей к потреблению значительно возрастающего объема доставляемого кислорода. Дальнейшее наблюдение фиксирует более умеренный рост концентрации обоих газотрансмиттеров вследствие реперфузии-реоксигенации к 3-м суткам по отношению к соответствующим показателям групп I и II ($p < 0,05$). Нормализация содержания NO_3^-/NO_2^- и H_2S в венозной крови к 8-м суткам после артериальной реконструкции при назначении корвитина за 3-е суток до вмешательства, в отличие от групп I и II, характеризует восстановление параметров кислородного гомеостаза до величин здоровых лиц ($p > 0,05$) к окончанию раннего послеоперационного периода. На рисунках 4 и 5 представлены данные о содержании нитрат/нитритов и сероводорода в плазме крови, оттекающей от нижних конечностей, при различных вариантах медикаментозного сопровождения и в различные сроки по отношению к моменту реваскуляризации.

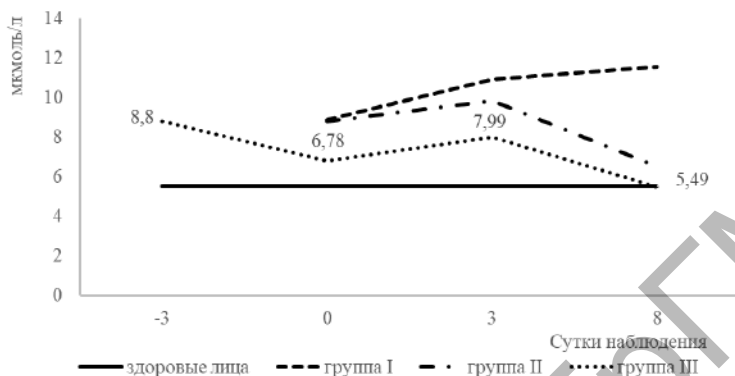


Рисунок 4 – Изменения содержания $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме венозной крови нижних конечностей при различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.

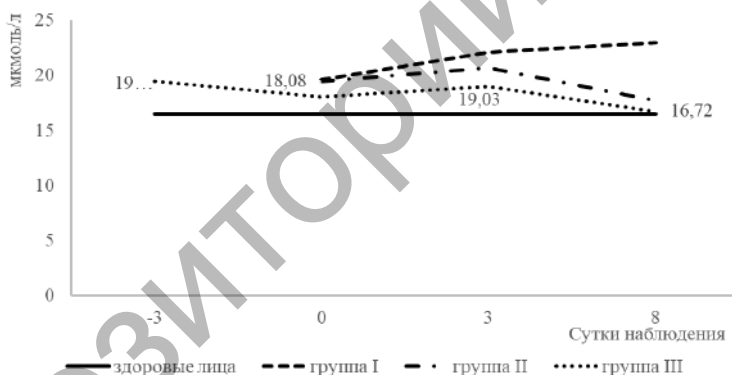


Рисунок 5 – Изменения содержания H_2S в плазме венозной крови нижних конечностей при различных вариантах медикаментозного сопровождения РЭПЭАЭ у пациентов с атеросклеротической окклюзией ПБА при III стадии ХАННК.



Рисунок 6 – Возможные механизмы эффекта корвитина в уменьшении проявления реперфузионно-реоксигенационного синдрома.

Применение корвитина для коррекции РРС после РЭПЭАЭ у пациентов с хронической атеросклеротической окклюзией ПБА показало свою эффективность, судя по улучшению показателей КТФ, ПАС и концентрации NO и H₂S крови, оттекающей от оперируемых нижних конечностей, и крови вен предплечий. Наблюдаемый эффект корвитина при РЭПЭАЭ из ПБА реализуется через коррекцию патогенетически значимых кислородзависимых механизмов за счет участия вклада газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода (рисунок 6). Корректирующее влияние на развитие РРС корвитин реализует через активацию АОС, изменения кислородсвязующих свойств крови и систему ГТ, ведущих к уменьшению прооксидантно-антиоксидантного дисбаланса. Таким образом, выполнение ретроградной эверсионно-петлевой эндартерэктомии из ПБА, предлагаемым способом, при хронической атеросклеротической окклюзии, дополненное назначением корвитина, является эффективным методом первичной реваскуляризации, который позволяет осуществлять коррекцию РРС. Применение лекарственного средства корвитин

после реваскуляризации нижних конечностей при хронической артериальной недостаточности атеросклеротического генеза улучшает КТФ венозной крови: уменьшает параметры инициируемых реперфузией гипероксемии, гипокапнемии, ацидоза, а при исходной ИБ стадии ишемии на 8-е сутки раннего послеоперационного периода приводит их к значениям здоровых лиц. Корректирующее влияние корвитина на прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс венозной крови при РРС проявляется в виде снижения активности процессов ПОЛ и увеличения резерва антиоксидантной защиты после восстановления кровообращения в нижних конечностях, а при ИБ стадии ишемии данные показатели достигают значений здоровых лиц в конце раннего послеоперационного периода. Концентрация газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода в венозной крови после реваскуляризации длительно ишемизированных нижних конечностей при применении корвитина существенно снижается, а при исходной ИБ стадии ишемии несущественно отличается от значений здоровых лиц на 8-е сутки после операции. Назначение корвитина за 3-е суток перед сосудистой реконструкцией и по 8-е сутки послеоперационного периода включительно (внутривенно по 500 мг через каждые 12 часов) наиболее эффективно уменьшает проявления РРС, возникающего после реваскуляризации длительно ишемизированных нижних конечностей. Данный способ коррекции РРС реализуется за счет улучшения кислородзависимых процессов через вклад системы газотрансмиттеров (монооксид азота и сероводород).

Библиографический список

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). – Москва, РФ: Медицина, 1989. – 368 с.
2. Гапонова Т.И., Кобеляцкий Ю.Ю., Панченко Г.В. Роль корвитина и латрена в профилактике и терапии реперфузионного синдрома при реконструктивных операциях у

пациентов с хронической ишемией нижних конечностей // Медицина неотложных состояний. – 2015. – Т. 65, № 2. – С. 120–124.

3. Генык С.Н., Симчич А.В. Реперфузионный синдром после реваскуляризации ишемии нижних конечностей // Сердце и сосуды. – 2016. – № 3. – С. 104–108.

4. Глебов А.Н., Зинчук В.В. Значение L-аргинин-NO системы в формировании кислородтранспортной функции крови // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2005. – № 1. – С. 3–8.

5. Засимович В.Н., Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н. Кислородтранспортная функция и газотрансмиттеры крови при хронической атеросклеротической окклюзии поверхностной бедренной артерии и после петлевой эндатерэктомии // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2020. – Т. 18, № 5. – С. 556–563.

6. Засимович В.Н., Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н., Гуляй И.Э. Прооксидантно-антиоксидантное состояние крови при хронической атеросклеротической окклюзии поверхностной бедренной артерии и после петлевой эндатерэктомии // Новости медико-биологических наук. – 2020. – Т. 20, № 3. – С. 108–115.

7. Засимович В.Н., Зинчук В.В., Иоскевич Н.Н. Применение корвитина для профилактики и коррекции ишемии-реперфузии нижних конечностей // Новости медико-биологических наук. – 2021. – Т. 21, № 4. – С. 139–144.

8. Иоскевич Н.Н. Хирургия хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза. – Гродно: ГрГМУ, 2007. – 315 с.

9. Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С. Эндотелиальная дисфункция и способы ее коррекции при облитерирующем атеросклерозе. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 152 с.

10. Максютина Н.П., Мойбенко А.А., Мохорт Н.А. и др. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин) / под. общ. ред. А.А. Мойбенко. – Киев: Навукова думка, 2012. – 275 с.

11. Маршалов Д.В., Петренко А.П., Глушач И.А. Реперфузионный синдром: понятие, определение,

классификация // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2008. – № 3. – С. 67–72.

12. Мищенко Т.С., Дмитриева Е.В. Комбинированная терапия препаратами Корвитин и Аксотилин в лечении больных с ишемическим инсультом // Международный неврологический журнал. – 2018. – № 1. – С. 31–36.

13. Муравьев А.В. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H₂S) в регуляции кровообращения: анализ участия в микрореологии клеток крови // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021. – Т. 20, № 1(77). – С. 91–99.

14. Тронько Н.Д., Кузнецова С.М., Черская М.С. Биофлавоноиды в лечении пациентов с сахарным диабетом 2-го типа и церебральным атеросклерозом // Эндокринология. – 2020. – Т. 2, № 1. – С. 33–41.

15. Чеснокова Н.П., Бриль Г.Е., Моррисон В.В., Бизенкова М.Н. Механизмы реперфузионного повреждения ишемизированных тканей и возможности фармакологической коррекции метаболических расстройств при гипоксических состояниях // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2017. – № 2. – С. 64–66.

Глава 6. Возрастные изменения аэробной производительности, гемореологии и микроциркуляции у лиц с разным уровнем двигательной активности

Михайлов П.В.

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»

Известно, что хронологический или паспортный возраст человека не является достаточным критерием его состояния здоровья и трудоспособности. Вместе с тем он является фундаментальной категорией, обозначающей временные характеристики онтогенеза [1]. В отличие от детей, временные периоды жизни взрослого человека включают не только положительные эволюционные, биологически обусловленные процессы, но и постепенное снижение активности всех жизненных функций. При этом не все изменения в организме, которые относят к типично возрастным, действительно происходят только вследствие прожитых лет, значительная часть из них связана с комплексом внешних факторов и, в том числе, со снижением двигательной активности человека [1, 2]. Вместе с тем люди среднего и пожилого возраста, сохраняющие регулярные мышечные нагрузки, демонстрируют меньшую выраженность или почти полное отсутствие негативных возрастных изменений ключевых адаптивных механизмов [3]. Таким образом, часто наблюдаемое снижение функциональных резервов организма с возрастом может быть связано не столько с угасанием функций, сколько с недостаточной их упражняемостью.

Влиянию двигательной активности на физическое развитие и функциональное состояние различных систем организма человека посвящено много работ, но в преобладающем большинстве подобных исследований объектом выступают молодые испытуемые, хотя проблема едва ли становится менее актуальной в старших возрастных группах. По

данным Всемирной организации здравоохранения [4], сниженная или недостаточная физическая активность была определена в качестве четвертого ведущего фактора риска глобальной смертности (6% от всех причин смертей в мире), следуя за высоким кровяным давлением (13%), употреблением табака (9%) и высоким уровнем глюкозы в крови (6%).

Известно, что выполнение абсолютного большинства бытовых и производственных физических усилий связано с аэробной энергопродукцией [5]. Это позволяет выделить в качестве интегрального показателя, характеризующего энергопотенциал организма человека величину максимального потребления кислорода (МПК). Показано, что МПК тесно связано с продолжительностью жизни и уровнем здоровья индивида [3,6]. Поскольку величина МПК определяет аэробную работоспособность, основным средством повышения которой является двигательная активность, то в этой связи можно сравнить две линии возрастных изменений: 1) изменения функционального состояния системы кровообращения в основном как реализация генетической программы этого процесса; 2) особенности возрастных изменений кровообращения в условиях регулярного воздействия аэробной мышечной работы. При этом важно исследовать механизмы долговременной адаптации на разных возрастных этапах и на всех уровнях интеграции организма, включая системную кардиогемодинамику, микроциркуляцию и реологию крови. Установление взаимосвязей отдельных гемореологических и микроциркуляторных показателей с величиной МПК, как обобщенным критерием адаптационного потенциала организма, характеризующим его функциональный резерв, позволит оценить их вклад в этот резерв, являющийся основой физического здоровья человека и определяющий качество его жизни на каждом из возрастных этапов.

Микроциркуляторное русло (МЦР), являясь неотъемлемой частью замкнутой сердечно-сосудистой системы, представляет собой противоположный сердцу «полюс», где реализуется ее основная функция – транскapиллярный обмен веществ и энергии [7]. Признаки возрастных изменений в этой

сложной микрососудистой системе начинают появляться после 40 лет и затрагивают как структурные преобразования, так и регуляторные реакции сосудов. Выявлено зависимое от возраста изменение числа и размеров микрососудов, повышение их жесткости и уменьшение диапазона вазомоторных реакций. Следствием этих, ассоциированных с возрастом, изменений является сокращение резервов кровотока [8]. Изменения напряжения сдвига, внутрисосудистого давления и местного уровня оксигенации, которые происходят в результате повышения запроса работающих тканей в кислороде и усиления кровотока при аэробной мышечной работе, запускают сосудистые адаптивные процессы, в том числе ремоделирование и ангиогенез, что в долгосрочной перспективе ведет к повышению функциональных резервов МЦР [9]. При этом можно полагать, что регулярная умеренная мышечная активность в среднем и пожилом возрасте может существенно профилактировать появление негативных сосудистых изменений.

Состояние МЦР тесно взаимосвязано с реологическими свойствами движущейся по нему крови [10]. В крупных сосудах ее текучесть определяется преимущественно концентрацией клеток крови (гематокрит) и вязкостью плазмы [11]. В сосудах микроциркуляции (МЦ), особенно в обменных капиллярах, где диаметр сосуда сопоставим с размером клеток крови, важное значение для перфузии тканей имеют микрореологические свойства форменных элементов и особенно их деформируемость, агрегация и адгезия [10]. В последние десятилетия было показано, что эритроциты, являясь самой многочисленной популяцией клеток крови, не только своими микрореологическими свойствами влияют на тканевую перфузию, но и активно участвуют в регуляции сосудистого тонуса, обеспечивая существенный вклад в дилатацию артериол. Известные механизмы регуляции кровотока с участием эритроцитов являются NO-зависимыми. Красные клетки крови могут синтезировать, транспортировать и выделять NO в системе кровообращения [12], осуществлять O₂-зависимое высвобождение АТФ с последующей стимуляцией синтеза NO

эндотелием. Сказанное выше мотивирует исследование роли микрореологических свойств эритроцитов в долговременной адаптации системы кровообращения к мышечным нагрузкам на фоне старения организма.

Поскольку кровообращение является одним из основных элементов системы транспорта кислорода при аэробной мышечной работе, то адаптивные изменения затрагивают все ее подсистемы: движение крови в магистральных сосудах, органный кровоток, микроциркуляцию и реологию крови. К долгосрочным адаптивным изменениям реологических свойств крови относится снижение вязкости – основного интегрального гемореологического параметра [13]. При этом для изменения вязкости крови и ее транспортного потенциала имеется большой набор влияющих факторов, в том числе: вязкость плазмы, гематокрит, деформируемость и агрегация эритроцитов, а также сдвиговые, внутрисосудистые условия. Показано, что под влиянием регулярных аэробных мышечных нагрузок вязкость плазмы умеренно снижается. Гематокрит, который существенно определяет величину вязкости цельной крови, сохраняется на оптимальном уровне для обеспечения эффективной кислородной емкости крови. Среди микрореологических характеристик наблюдается повышение деформируемости эритроцитов и снижение их агрегации [13]. Однако, приведенные выше литературные данные касаются адаптивных перестроек параметров гемореологического профиля у молодых лиц, как правило, активно тренирующихся спортсменов. Что касается изменений текучести крови и ее транспортных возможностей при мышечной тренировке у лиц разного возраста в процессе старения, то комплексных исследований по данной проблеме практически нет.

Известно, что определенные изменения параметров гемореологического профиля могут компенсировать негативные сдвиги сосудистого компонента системы кровообращения [14]. Это может происходить, например, при реализации оздоровительных программ аэробной мышечной тренировки у лиц среднего, пожилого и старческого возраста. Однако, это требует специального изучения, поскольку данные по этой

проблеме фрагментарны и не систематизированы. Вместе с тем, анализ комплекса гемореологических характеристик показывает, что реологические свойства крови дают более широкий набор инструментов влияния на тканевую перфузию, чем сосуды. Последние регуляторно могут изменять в основном только свой диаметр. К инструментам регулирования текучести крови и, следовательно, ее транспортного потенциала для кислорода и субстратов окисления, относится: 1) оптимизация вязкости плазмы, 2) формирование оптимального гематокрита (связанного с кислородной емкостью крови), 3) относительное уменьшение агрегации эритроцитов и 4) увеличение деформируемости эритроцитов. Последнее ассоциировано с повышением продукции АТФ и NO, адресованных артериолам для управления их тонусом [15]. Кроме того, важным регуляторным механизмом является создание правильной комбинации вязкости плазмы и гематокрита, поскольку от этого зависит формирование нужной величины напряжения сдвига на сосудистом эндотелии для запуска продукции NO [16]. Все это в целом представляет собой важную научную задачу – изучение возможной роли параметров гемореологического профиля как инструментов компенсации возрастных изменений в системе кровообращения. Таким образом, литературные данные свидетельствуют о том, что некоторые изменения морфофункциональных характеристик систем организма, которые принято считать возраст-ассоциированными, выражены в меньшей мере у лиц, имеющих регулярные физические нагрузки. Такие характеристики, как эластичность сосудов и резервы их дилатации, активность и согласованность работы различных механизмов регуляции сосудистого тонуса, вязкость крови, плазмы и микрореологические свойства эритроцитов, во многом зависят от режима двигательной активности человека. Недостаток информации о возрастных изменениях в системе кровообращения на микроуровне интеграции, в том числе о состоянии микрососудистого русла и реологических свойств эритроцитов, не позволяет составить полной картины участия механизмов долговременной адаптации в формировании аэробных резервов организма у лиц, регулярно получающих

аэробные мышечные нагрузки. Исследование данной проблемы может иметь существенное профилактическое значение и позволит формировать жизненные стратегии на основе знаний эффектов и механизмов адаптации к мышечным нагрузкам. Учитывая вышесказанное, особую актуальность приобретает проведение комплексного исследования системы МЦ, включающего определение собственно сосудистых характеристик, а также макро- и микрореологических показателей крови с анализом корреляционных и регрессионных связей с аэробной работоспособностью у лиц разного возраста и имеющих разный уровень двигательной активности.

1. Возрастные изменения показателей центральной гемодинамики и аэробной работоспособности у лиц с разным уровнем физической активности

С возрастом происходит повышение одного из ключевых показателей центральной гемодинамики – артериального давления (АД), и изменения были зарегистрированы среди физически неактивных лиц (ФНЛ) и физически активных лиц (ФАЛ). В группах ФНЛ достоверное увеличение диастолического артериального давления (ДАД) было зарегистрировано в возрасте 31-40 лет, а в группе 41-50 лет систолическое артериальное давление (САД) по своим значениям приблизилось к верхней границе нормы и статистически значимо отличалось от показателя группы ФАЛ того же возраста. У ФАЛ повышение ДАД с возрастом было зафиксировано на декаду позднее (41-50 лет) и выражено в меньшей степени, а изменения САД имели тенденциозный характер. Расчетный интегральный показатель – двойное произведение (ДП) косвенно отражает функциональное состояние всей сердечно-сосудистой системы. Его значения во всех возрастных группах ФАЛ были меньше, чем у ФНЛ, что свидетельствует о более экономичной работе аппарата кровообращения в покое у первых. Важно заметить, что экономизация функций в состоянии относительного покоя, в частности, снижение ЧСС и как следствие ДП (при неизменном АД), является проявлением долговременной адаптации

сердечно-сосудистой системы к характерным (аэробным) мышечным нагрузкам и признаком повышения аэробного потенциала [17]. Различия в рассматриваемых показателях между ФАЛ и ФНЛ позволяют судить о влиянии регулярных физических нагрузок на состояние сердечно-сосудистой системы и ее адаптационные перестройки, а временная разница в появлении первых признаков инволюционных изменений о вкладе многолетней двигательной активности в поддержание высокой эффективности работы аппарата кровообращения и возможности сохранения значительных функциональных резервов. Результаты корреляционного анализа демонстрируют более тесную взаимосвязь изменений АД с возрастом у ФНЛ ($r=0,53$; $p<0,05$), чем у ФАЛ ($r=0,12$). Таким образом, можно полагать, что в долгосрочной перспективе при действии только одного фактора – возраста – риск повышения АД выше, чем при совместном влиянии двух факторов – возраста и регулярных физических нагрузок.

Полученные данные о возрастных изменениях ЧСС и АД у физически активных и неактивных лиц находят подтверждение в работах других авторов. В качестве одной из причин повышения АД с возрастом рассматривают повышение жесткости сосудистой стенки, ведущее к увеличению общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС), которое относят к маркерам старения [18]. Снижение эластичности сосудов может быть частично компенсировано на уровне центрального отдела сердечно-сосудистой системы за счет большей силы сокращения сердца и повышения давления в системе, а также за счет изменений реологических свойств крови, направленных на увеличения вязкости [10]. Более высокая вязкость крови повышает напряжение сдвига на сосудистой стенке, что стимулирует клетки эндотелия к продукции мощного вазодилататора NO [19] и способствует поддержанию на адекватном уровне тканевой перфузии в условиях возрастающего ОПСС. У ФАЛ зрелого и пожилого возраста величина ОПСС, как правило, меньше, чем у ФНЛ и возрастные изменения АД и вязкости крови у них менее выражены, чем у ФНЛ, что согласуется с результатами нашего исследования.

Под влиянием регулярных физических нагрузок динамического характера отмечаются уменьшение модуля упругости артерий эластического типа, улучшение функции эндотелия сосудов, уменьшение удельного периферического сопротивления. При этом полагают, что это может быть связано с относительным преобладанием β -адренергической стимуляции резистивных сосудов над α -адренергической стимуляцией. Происходит перестройка иннервации сердца, что проявляется повышением тонуса блуждающего нерва. Такое влияние систематических мышечных нагрузок на кровообращение, отмечаемое в состоянии покоя, принято расценивать как проявление экономизации функции [17]. Поскольку насосная функция сердца считается основным звеном, лимитирующим аэробную производительность, то ее уменьшение считается одной из основных причин снижения МПК с возрастом. Достоверное уменьшение величины МПК, одного из ключевых интегральных показателей функциональных возможностей организма, было зарегистрировано в возрастном периоде 31-40 лет, и было характерно как для ФНЛ, так для ФАЛ (рис. 1).

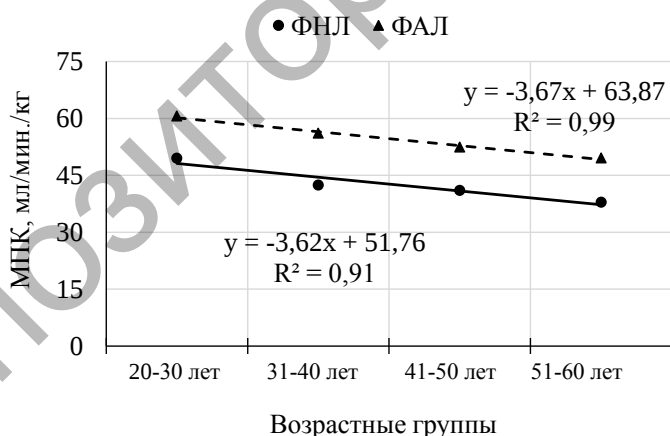


Рисунок 1 – Тренды и регрессионные соотношения, характеризующие возрастные изменения величины МПК/кг у физически неактивных лиц (ФНЛ) и физически активных лиц (ФАЛ)

Общий тренд изменений демонстрирует равная по силе корреляционная взаимосвязь относительного показателя МПК с возрастом $r = -0,60$ ($p < 0,05$). Единая направленность и темп изменений у лиц с разным уровнем двигательной активности позволяет отнести МПК к возраст-ассоциированным показателям. Сходный возрастной тренд величины МПК у ФАЛ и ФНЛ способствовал сохранению различий между данными категориями лиц во всех возрастных группах. Средний темп возрастного снижения МПК был одинаковым и составил 0,31 мл/мин/кг в год. При выраженных различиях показателей МПК между ФАЛ и ФНЛ (около 30%) среднее его значение в группе 51-60 лет у ФАЛ соответствовало уровню ФНЛ 20-30 лет. В условиях мышечной работы во всех возрастных группах ФАЛ численные значения пульсового критерия экономичности (ПКЭ), характеризующего пульсовую стоимость преодоления единицы силы (1 Ньютон), были меньше, чем у ФНЛ. Более высокая экономичность, как критерий большей эффективности работы сердечно-сосудистой системы в условиях мышечной нагрузки и больших функциональных резервов [17], была основой для достижения ФАЛ более высоких показателей, характеризующих физическую работоспособность, чем ФНЛ. Существенно различалась возрастная динамика ПКЭ. У ФАЛ характер изменений был близкий к линейному ($R^2 = 0,80$), а у ФНЛ он был более сложным, и при этом средний темп возрастных изменений был на 70% выше. Снижение аэробной работоспособности тесно связано с возрастным уменьшением резервов максимальной величины ЧСС (ЧСС_{max}), которую относят к возраст-зависимым показателям [20]. В 40 лет уменьшение ЧСС_{max} может составлять около 10%, а к 70 годам – 20% и более. У ФАЛ возрастное снижение ЧСС_{max} может компенсироваться увеличением УО, при этом до 40 лет МОК в условиях мышечной работы может сохраняться без существенных изменений. У ФНЛ подобной компенсации не происходит и уменьшение ЧСС_{max} с возрастом критически сказывается на МОК, ограничивая его и снижая физическую работоспособность. К важным отличительным особенностям возрастных изменений аэробной производительности следует

отнести более раннее снижение величины критической мощности ($W_{кр.}$) у ФНЛ (31-40 лет) по сравнению с ФАЛ (41-50 лет). Уменьшение $W_{кр.}$ может быть обусловлено как количественными, так и качественными изменениями в мышечной системе. При отсутствии метаболической потребности (адекватной двигательной активности) происходит деградация мышечной системы, первые признаки которой регистрируются у мужчин после 30 лет [17]. Поскольку основную роль в регуляции мышечной капилляризации отводят фактору роста сосудистого эндотелия (VEGF) [21], а митохондриального биогенеза и формирования мышечных волокон белку PGC-1 α [22], а также учитывая, что их экспрессия в мышцах в ответ на физическую нагрузку у мужчин с возрастом практически не изменяется [23], то, вероятно, более раннее снижение $W_{кр.}$ у ФНЛ, чем у ФАЛ, может быть связано не с возрастными инволюционными процессами, а с уменьшением функциональных резервов мышечной системы по причине не востребованности. В пользу данного предположения свидетельствует тот факт, что в комплексе показателей, характеризующих аэробную работоспособность, наиболее выраженные различия между ФНЛ и ФАЛ были зафиксированы именно в значениях $W_{кр.}$ (от 33% до 50%).

2. Возрастные изменения системы микроциркуляции у лиц с разным уровнем физической активности

Было установлено, что параметры МЦ умеренно коррелировали с возрастом испытуемых. Так, у ФНЛ диаметр артериол и венул конъюнктивы имел обратную взаимосвязь с возрастом ($r = -0,63$ и $r = -0,42$ соответственно, $p < 0,05$). Среди ФАЛ зависимость была слабее для артериол ($r = -0,40$, $p < 0,05$), а для венул сходной ($r = -0,41$, $p < 0,05$). Умеренная обратная взаимосвязь с возрастом была характерна и для диаметра обменных сосудов кожи. Коэффициент корреляции в у ФНЛ был равен $-0,51$ ($p < 0,05$), а среди ФАЛ $-0,55$ ($p < 0,05$). Поскольку тренд возрастных изменений диаметров микрососудов у ФНЛ и ФАЛ был единым, то их можно отнести

к возраст-ассоциированным показателям. Одним из компенсаторных механизмов поддержания перфузии на адекватном запросе тканей уровне в условиях уменьшенного диаметра сосудов МЦ может быть (по крайней мере для сосудов кожи) увеличение числа включенных в циркуляцию капилляров. На возможность такой компенсации указывает корреляционная взаимосвязь между плотностью функционирующих капилляров и их диаметром $r = -0,48$ ($p < 0,05$) среди ФНЛ и $r = -0,66$ ($p < 0,05$) у ФАЛ. Более высокая взаимосвязь среди ФАЛ может свидетельствовать о наличии у них более значительных компенсаторных резервов по сравнению с ФНЛ, развитие которых позволяет минимизировать влияние возраст-зависимых факторов. Механизмы повышения (или сохранения на фоне возраст-ассоциированных изменений) возможностей системы МЦ тесно связаны с режимом двигательной активности, так как процессы ангиогенеза и ремоделирования сосудов, лежащие в основе долгосрочных адаптационных преобразований, в значительной мере опосредуются через действие специфических белков (в частности VEGF), экспрессия которых усиливается во время физической нагрузки и в период восстановления [21]. Важно отметить, что увеличение экспрессии VEGF регистрируется независимо от возраста.

В комплексе показателей МЦ, зарегистрированных в состоянии покоя, наиболее выраженные различия в темпах возрастных изменений между ФНЛ и ФАЛ были характерны для диаметров резистивных сосудов конъюнктивы. Так, в возрастном периоде от 20 до 60 лет средний темп уменьшения диаметра артериол у ФАЛ составил 0,6% в год, а у ФНЛ – 1,0% в год. Известно, что с возрастом изменяется баланс между вазодилататорными и вазоконстрикторными влияниями в сторону преобладания последних [24]. Более высокие темпы возрастных изменений у ФНЛ могут быть связаны с ограниченностью востребованного регуляторного диапазона реакций МЦР, а также значительном сокращении стимулов для экспрессии вазоактивных веществ и снижении их биодоступности. Поскольку мышечная работа и связанное с ней увеличение напряжения сдвига на сосудистой стенке является

мощным стимулом для продукции эндотелием вазодилатора – оксида азота, а также учитывая, что после физической нагрузки фосфорилирование eNOS и продукция NO продолжается, то указанный механизм может лежать в основе более позднего появления у ФАЛ признаков возраст-ассоциированных перемен в МЦР и замедленных темпов инволюционных изменений, по сравнению с ФНЛ [19].

Меньшие диаметры сосудов у ФАЛ, чем у ФНЛ (особенно артериол), зарегистрированные в состоянии покоя, а также больший просвет капилляров и замедление кровотока (снижение перфузии) являются характерными особенностями микроциркуляторного профиля у тренированных лиц. В большей мере эти признаки выражены у спортсменов, развивающих выносливость. Их связывают с проявлением экономизации функций в покое и с более высокой экстракцией кислорода из крови тканями [25]. Данные перфузии кожи в состоянии покоя демонстрируют отсутствие значимых возрастных изменений у ФАЛ, тогда как у ФНЛ после 40 лет было зарегистрировано достоверное снижение интенсивности кожного кровотока. Коэффициент корреляции между перфузией кожи и возрастом у ФНЛ был равен $-0,42$ ($p < 0,05$), а среди ФАЛ взаимосвязи выявлено не было. Показатель перфузии в определенной мере характеризует кровоснабжение ткани, которое является результатом комплекса регуляторных влияний. У здоровых лиц в состоянии относительного покоя, в термонейтральных условиях значимых изменений перфузия кожи с возрастом, как правило, не наблюдается [24]. Уменьшение перфузии кожи у ФНЛ может быть связано с изменением артериального давления, которое в тот же возрастной период (41-50 лет) достоверно повысилось до значений, близких к верхней границе нормы. Известно, что при артериальной гипертонии регистрируются выраженные нарушения кровотока на уровне МЦ, связанные как с собственно сосудистыми факторами (вазоконстрикция), так и с реологическими характеристиками крови (синдром гипервязкости). При этом установлено, что негативные изменения носят системный характер и признаки

гипертонической болезни регистрируются на уровне МЦ раньше, чем в центральных отделах сердечно-сосудистой системы [24]. Таким образом, умеренное снижение перфузии кожи и приближение АД к верхней границе нормы у ФНЛ вписываются в общую картину патогенеза артериальной гипертонии. Корреляционный анализ позволил установить слабую, но достоверную взаимосвязь величины САД с перфузией кожи среди ФНЛ $r = -0,38$ ($p < 0,05$), у ФАЛ взаимосвязи выявлено не было. В дополнении к этому в старших возрастных группах (51-60 лет) ФНЛ и ФАЛ была найдена отрицательная корреляция между САД и плотностью функционирующих капилляров (ПФК) ($r = -0,58$; $p < 0,05$). На основе этих данных можно полагать, что в связи с возрастными изменениями морфологии капилляров [26] для более эффективной их перфузии требуется более высокое движущее давление. Это согласуется с совпадающими трендами возрастных изменений САД и ПФК, которые характерны как для ФНЛ, так и для ФАЛ, с небольшими количественными различиями. При этом если проследить эти параллельные изменения (САД и ПФК) до возраста 50 лет, то кривые практически совпадают. Следовательно, можно полагать, что возрастное повышение артериального давления, как движущей силы кровотока, способствует открытию большего числа капилляров, что и наблюдалось в старших возрастных группах ФНЛ и ФАЛ.

При анализе изменений диаметров микрососудов конъюнктивы в ответ на субмаксимальную физическую нагрузку были выявлены значительные индивидуальные вариации показателей, а также особенности реакции в группах ФНЛ и ФАЛ. Поскольку в процессе мышечной деятельности происходит перераспределение объема крови в пользу активно участвующих в работе органов, то изменение кровотока в МЦР конъюнктивы может в определенной мере отражать эффективность работы различных регуляторных систем. Во всех группах ФНЛ перекалибровка диаметров артериол и венул конъюнктивы после мышечной работы вызывала увеличение артериоло-венулярного соотношения (АВС), величина которого

превосходила значения аналогичного показателя у ФАЛ, даже если до физической нагрузки картина была обратной. Различия в регуляторной перестройке МЦР могут быть обусловлены более генерализованным ответом ФНЛ на мышечную нагрузку, чем ФАЛ, сосудистые реакции у которых были более скоординированными. Необходимо отметить, что с возрастом имелась общая тенденция к более выраженному увеличению диаметра артериол конъюнктивы после мышечной работы, что на фоне возраст-зависимого сужения сосудов может являться проявлением нормализующего вазодилататорного эффекта физической нагрузки в старших возрастных группах. Взаимосвязь между процентным изменением диаметра артериол и возрастом среди ФНЛ была равна 0,42 ($p < 0,05$), а среди ФАЛ – 0,50 ($p < 0,05$). Анализ изменений перфузии кожи в условиях рабочей гиперемии позволил оценить резервы кожного кровотока у ФНЛ и ФАЛ разного возраста. Прирост величины перфузии кожи в ответ на физическую нагрузку с возрастом снижался как у ФНЛ, так и у ФАЛ, но у последних уменьшение резервов кожного кровотока было зарегистрировано позднее (41-50 лет), а средний темп возрастных изменений был выше, чем у первых (31-40 лет).

Поскольку в условиях тепловой нагрузки кожный кровоток может достигать 5-6 л/мин., что для нетренированного человека составляет около 50% минутного объема кровообращения (МОК), то резервы микрососудистой перфузии кожи могут быть лимитированы возможностями сердечно-сосудистой системы на уровне центрального звена. Особую актуальность это ограничение приобретает при интенсивной физической нагрузке, когда на обеспечение запроса работающих мышц может направляться до 90% МОК [17]. В этих условиях резервов для реализации терморегуляторной функции у ФНЛ существенно меньше, чем у ФАЛ. Для оценки зависимости резервов кожного кровотока от функциональных возможностей сердца был проведен корреляционный анализ между двумя признаками: 1 – величиной прироста перфузии кожи в ответ на физическую нагрузку; 2 – пульсовым критерием экономичности (ПКЭ), являющимся показателем эффективности работы

сердечно-сосудистой системы в условиях мышечной деятельности и характеризующим ее резервные возможности. Для устранения влияния фактора возраста анализ проводили в смешанной группе лиц 20-30 лет. Значение коэффициента корреляции составило $-0,48$ ($p < 0,05$), что свидетельствует о заметной роли функциональных резервов центрального аппарата системы кровообращения в реализации процесса терморегуляции при мышечной деятельности.

Более высокие темпы возрастного снижения резервов перфузии кожи у ФАЛ после 40 лет могут быть связаны с уменьшением интенсивности мышечных нагрузок. Поскольку увеличенные функциональные возможности являются результатом многолетней тренировки, то для сохранения достигнутого уровня необходимо поддержание величины тренировочного стимула. Так, например, у спортсменов после окончания активных занятий и снижения интенсивности тренировок темпы возрастного снижения многих функциональных показателей (например, МПК) могут быть выше, чем у физически неактивных лиц, в 2-3 раза, но несмотря на это, их аэробный потенциал даже в возрасте 80 лет почти в двое превосходит показатели лиц того же возраста, ведущих малоподвижный образ жизни [27].

Во всех возрастных группах резервы кожного кровотока у ФАЛ в 1,5-2 раза превосходили показатели ФНЛ. Поскольку в процессе мышечной работы кожа выполняет терморегуляторную функцию, от эффективности реализации которой в значительной мере зависит физическая работоспособность, то адаптация к двигательным нагрузкам (особенно аэробным) связана со структурными и регуляторными перестройками МЦР этого органа. Показано, что аэробные тренировки повышают резервные возможности кожного кровотока при терморегуляции, сдвигая температурный порог для вазодилатации к более низким температурам [28]. То есть у ФАЛ увеличение перфузии кожи в условиях мышечной работы регистрируется раньше (при меньшем увеличении температуры тела) и имеет больший резерв для роста, чем у ФНЛ. Среди ФАЛ увеличение перфузии преимущественно обеспечивалось

повышением числа функционирующих капилляров, а у ФНЛ как за счет повышения плотности функционирующих капилляров, так и за счет увеличения их диаметра. В результате корреляционного анализа была установлена взаимосвязь между изменениями величины перфузии и числа функционирующих капилляров после выполнения физической нагрузки у ФАЛ $r=0,58$ ($p<0,05$), среди ФНЛ взаимосвязи выявлено не было. Зависимость диаметра капилляров от их функциональной плотности в состоянии покоя, выражавшаяся коэффициентом корреляции $-0,48$ ($p<0,05$) у ФНЛ и $-0,66$ ($p<0,05$) у ФАЛ, после мышечной работы сохранилась на том же уровне тесноты связи $-0,50$ ($p<0,05$) в обеих выборках.

Поскольку роль ключевого молекулярного медиатора возрастных изменений в сосудистой системе кожи отводят NO, то снижение резервов вазодилатации при терморегуляции может быть связано с несколькими механизмами (рис. 2):

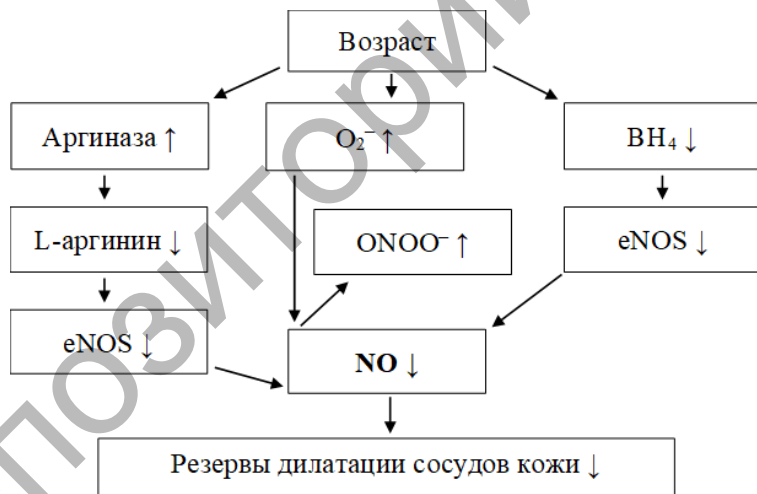


Рисунок 2 – Механизмы возрастного снижения резервов дилатации сосудов кожи

Обозначения: NO – оксид азота; O₂⁻ – супероксид; eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота; ONOO⁻ – пероксинитрит; BH₄ – тетрагидробиоптерин

1) повышением продукции аргиназы, которая конкурирует с eNOS за общий субстрат L-аргинин, в результате доступность L-аргинина для eNOS снижается и продукции NO уменьшается; 2) увеличением активных форм кислорода, включая супероксид (O_2^-), который может реагировать с NO с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$), что приводит к снижению биодоступности NO и, следовательно, к снижению NO-зависимой вазодилатации; 3) снижением уровня тетрагидробиоптерина (BH_4), который дестабилизирует функциональную конформацию димера NOS и ослабляет вазодилатацию [24].

Указанные механизмы сопряжены с возраст-ассоциированным снижением NO-зависимой вазодилатации и характерны для лиц с разным уровнем двигательной активности, но резервные возможности кожного кровотока и темпы их возрастных изменений у ФНЛ и ФАЛ различны. Полученные нами данные демонстрируют, что величина резерва кожного кровотока может быть чувствительным маркером функционального состояния системы МЦ.

3. Возрастные изменения реологических свойств крови у лиц с разным уровнем физической активности

В настоящее время не вызывает сомнения то, что сосудистая стенка и текущая по сосудам кровь регуляторно взаимодействуют [10]. Происходит обмен сигнальными молекулами, например, между эритроцитами, выделяющими АТФ и NO, и эндотелиальными клетками сосудов. Поэтому эритроциты крови рассматривают как сенсоры и регуляторы тканевой перфузии. Они в ответ на механическое напряжение мембраны и/или гипоксический стимул выделяют сигнальные молекулы для управления тонусом артериол [29]. Более того, синтезированные эритроцитами сигнальные молекулы АТФ и NO доступны для регулирования микрореологии самих эритроцитов по аутокринному механизму. Поскольку при мышечной работе требуется более эффективная доставка кислорода и субстратов окисления в тканевые микрорайоны, то

можно полагать, что у ФАЛ механизмы управления этими процессами более совершенны. При этом ведущая роль в этой регуляции может принадлежать именно эритроцитам и их микрореологии. Это может объясняться тем фактом, что образование АТФ и NO в эритроцитах и их вазодилатационные эффекты могут компенсировать местные симпатические вазоконстрикторные реакции. Таким образом, эритроциты имеют два инструмента регуляции тканевой перфузии: 1) влияние на тонус сосудов и 2) изменение собственной микрореологии (увеличение деформируемости и снижение агрегации). Это дает существенный регуляторный вклад в решение задачи доставки кислорода в тканевые микрорайоны, что особенно важно при мышечной работе.

Обнаруженные изменения функциональной микроциркуляторной характеристики – микрососудистой перфузии (ПМ) в состоянии покоя были менее информативны, чем в условиях мышечной работы. Во всех возрастных группах ФАЛ эта характеристика (ПМ) увеличивалась при нагрузке в значительной большей степени, чем у ФНЛ. Так, в первых возрастных группах (20-30 лет) у ФНЛ прирост составил 49%, а у ФАЛ – 86%. В старших возрастных группах нагрузка вызывала, хотя несколько меньшие изменения микрососудистой перфузии кожи, чем у молодых, однако ее относительные приросты существенно различались: 39% – в группе ФНЛ и 65% – у лиц группы ФАЛ. Можно предполагать, что это связано и с благоприятными изменениями *гемореологического профиля*, который включал более высокую текучесть крови и плазмы при высоких и низких скоростях сдвига, сниженную агрегацию эритроцитов в сочетании с приростом их деформируемости. Подобный комплекс изменений характерен для функциональных перестроек тренированного организма [13]. Вместе с тем полученные данные о параметрах гемореологического профиля у обследованных лиц свидетельствуют о том, что, во-первых, с возрастом вязкость крови увеличивается и, во-вторых, ее возрастной прирост был в большей степени выражен у ФНЛ. Кроме того, во всех возрастных группах наблюдений была найдена достоверно

более низкая вязкость цельной крови в группах ФАЛ, чем у ФНЛ (в среднем, на 14%; $p < 0,05$). Это дает преимущество в реализации транспортной функции крови и доставки кислорода в тканевые микрорайоны. Анализ регрессионных уравнений, приведенных на рисунке 3, позволил количественно определить темпы возрастных изменений. Так, при характерном для ФНЛ и ФАЛ возрастном повышении вязкости крови у первых интенсивность изменений была на 18% выше. На это указывала большая величина коэффициента «а» в уравнениях вида $y = ax + b$, которая характеризует меру прироста «у» при увеличении «х» на единицу.

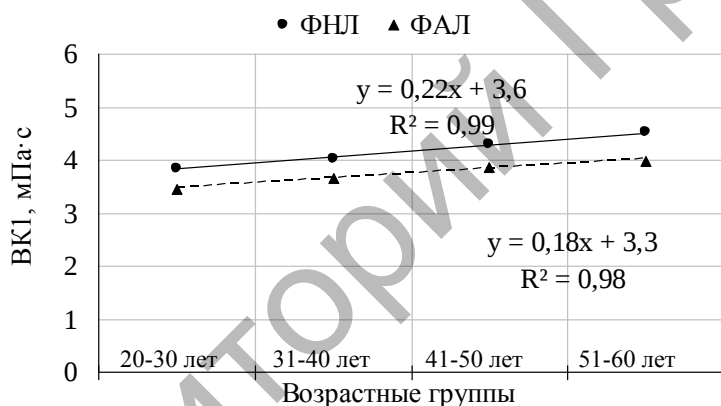


Рисунок 3 – Регрессионные соотношения возраста и вязкости крови при высоких скоростях сдвига (ВК1) в группах физически неактивных (ФНЛ) и физически активных лиц (ФАЛ)

Из уравнения Пуазейля следует, что вязкость крови (η) вносит существенный вклад в сопротивление кровотоку. Поэтому вполне вероятно, что сердце вынуждено генерировать большую силу (повышать движущее давление – ΔP) для перфузии крови через сосудистое русло. Об этом свидетельствовали приведенные выше данные о возрастной динамике АД, а также эту связь демонстрируют

однонаправленные тренды возрастных изменений ДАД и вязкости крови. При представлении данных возрастных изменений вязкости крови, измеренной при низких скоростях сдвигового течения, регрессионными уравнениями, было выявлено, что в группах ФНЛ прирост был на 83% более выраженным, чем в группах ФАЛ. Важно заметить, что достоверность аппроксимации экспериментальных данных на 93-95% совпадают с регрессионной математической моделью. Возрастные изменения основного интегрального параметра реологии крови – ее динамической вязкости вероятнее всего связаны с приростом вязкости плазмы (ВП). Было установлено, что ВП на 13-15% ($p < 0,05$) больше в старших возрастных группах (51-60 лет), чем у молодых лиц (20-30 лет). Типичными были корреляционные взаимосвязи высокой и средней силы между вязкостью крови (при высоких скоростях сдвига) и ВП. В группе ФАЛ коэффициент корреляции был равен 0,79 ($p < 0,01$), а в группе ФНЛ 0,59 ($p < 0,05$). Расчет коэффициента детерминации ($D = r^2 \times 100\%$) показал, что вклад ВП в результирующую вязкость крови мог составлять от 34 до 62%. В свою очередь ВП зависит от концентрации плазменных белков, и, главным образом, от фибриногена [30]. Результаты наших исследований показали, что приросты ВП и концентрации фибриногена в исследованном возрастном периоде практически совпадают. При оценке вклада гематокрита, который считается основным параметром, определяющим текучесть крови, были получены ожидаемо высокие корреляционные взаимосвязи: у ФАЛ коэффициент корреляции между вязкостью крови и гематокритом был равен 0,78 ($p < 0,01$), а у ФНЛ 0,82 ($p < 0,01$). Вместе с тем не было обнаружено заметных изменений гематокрита с возрастом, поэтому его роль в выявленном возрастном приросте вязкости крови, вероятно, не существенна.

Таким образом, при анализе изменений вязкости цельной крови с возрастом важно заметить, что она существенно зависит от двух реологических характеристик: вязкости плазмы и гематокрита. Хотя теоретически гематокрит является основным детерминантом вязкости крови, но поскольку он существенно не различался во всех сравниваемых

группах наблюдений, то следует полагать, что основной вклад в снижение текучести крови с возрастом вносила увеличивающаяся вязкость плазмы. Известно, что транспортный потенциал крови определяется отношением гематокрита к вязкости цельной крови (Hct/η) [13]. Было найдено, что в группах ФНЛ и ФАЛ с возрастом этот показатель снижался, а разница между его значениями в группах 20-30 лет и 51-60 лет составила 12% и 14% для групп ФАЛ и ФНЛ соответственно (рис. 4). Необходимо подчеркнуть достоверные различия значений индекса Hct/η между ФНЛ и ФАЛ во всех группах наблюдения. Более того, в старшей возрастной группе ФАЛ (51-60 лет) индекс был равен $11,5 \pm 0,22$ отн. ед., что лишь на 0,2 отн. ед. меньше, чем в группе ФНЛ 20-30 лет.

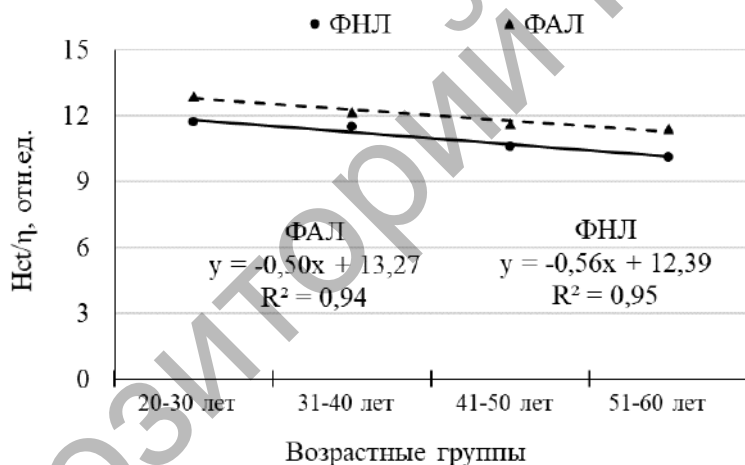


Рисунок 4 – Регрессионные возрастные тренды показателя эффективности транспортной функции крови (отношение Hct/η) в группах физически неактивных (ФНЛ) и физически активных лиц (ФАЛ)

При анализе соотношения гематокрит/вязкость крови, как индекса эффективности транспорта, была установлена ведущая роль вязкости крови. Если взять величину, обратную вязкости, ее текучесть и определить ее связь с индексом

эффективности транспорта кровью кислорода, то обнаруживается тесная положительная корреляция, равная 0,85 ($p < 0,01$), тогда как, с концентрацией эритроцитов (Hct) и гемоглобином указанный индекс коррелировал существенно менее выражено и отрицательно ($r = -0,41$ и $-0,17$, соответственно). Отношение гематокрита к вязкости многими авторами действительно рассматривается как важный показатель эффективности транспорта кровью кислорода [13]. Если принять, что сосуды максимально дилатированы или имеются ограничения их расширения, то для эффективной перфузии тканей важными становятся гемореологические факторы: относительно невысокая вязкость крови и оптимальный гематокрит. Кроме того, важность гемореологического компонента в реализации интегрального показателя аэробного потенциала организма подчеркивает семейство корреляций между $PWC_{170}/\text{кг}$ – вязкость крови ($r = -0,74$; $p < 0,05$); МПК – вязкость крови ($r = -0,73$; $p < 0,05$); МПК/кг – вязкость крови ($r = -0,68$; $p < 0,05$). Наличие отрицательных корреляций свидетельствует о том, что снижение вязкости (величины, обратной текучести) будет способствовать приросту аэробной работоспособности.

Таким образом, полученные данные позволяют заключить, что эффективность транспорта кислорода кровью и его доставка в тканевые микрорайоны более чем на 70% определяется вязкостью крови и плазмы, тогда как на долю других факторов (гематокрита, микрореологических характеристик эритроцитов) приходится менее 30%. Последнее основывается на расчете коэффициента детерминации. Прирост вязкости крови и плазмы с возрастом в группах ФНЛ и ФАЛ может иметь и компенсаторный характер. Если сосудистый контур регуляции тканевой перфузии с возрастом может быть ограничен, например, из-за склерозирования артериол и мелких артерий и уменьшения доступных паракринных сигнальных молекул (оксида азота, брадикинин, простаглицлин и др.) [31], то может происходить компенсаторное усиление влияния на эндотелий сосудов напряжения сдвига, величина которого зависит от вязкости. Известно, что именно ВП выступает таким

регуляторным фактором [15]. С учетом вышесказанного были рассмотрены особенности увеличения ВП с возрастом в группах ФНЛ и ФАЛ. Прежде всего, следует заметить, что величина прироста ВП на каждом возрастном этапе была в диапазоне от 3 до 7%. Если взять изменения в абсолютных единицах вязкости (мПа·с), то это будет от 0,07 до 0,11 мПа·с, что составляет менее 5% (в среднем 4,95%) от величины вязкости плазмы. Можно полагать, что такие величины прироста ВП вряд ли существенно повлияют на *сопротивление кровотоку*, но могут, тем не менее, создавать необходимый градиент напряжения сдвига на клетках сосудистого эндотелия. При этом важно иметь в виду, что напряжение сдвига (τ) пропорционально вязкости жидкости и скорости сдвига ($\tau = \eta \cdot \dot{\gamma}$). Из этого следует, что изменение вязкости пропорционально увеличивает напряжение сдвига на сосудистом эндотелии [17]. Данные регистрации возрастных изменений одной из ключевых гемореологических характеристик – вязкости плазмы – позволяют получить прогностические уравнения для предсказания вероятных изменений текучести крови и ее транспортного потенциала с возрастом. Выявленные увеличения ВП с возрастом хорошо описываются семейством уравнений линейной регрессии, о чем свидетельствует высокая величина достоверности аппроксимации экспериментальных данных ($R^2 = 0,98$) (рис. 5А). Так, прирост ВП в группе ФНЛ с возрастом может быть представлен математической моделью вида: $y = 0,094x + 0,9$, а у ФАЛ $y = 0,077x + 0,9$. Меньшая величина коэффициента «а» в уравнении $y = ax + b$ указывает на менее выраженный прирост ВП с возрастом у ФАЛ. В группах ФАЛ было установлено, что прирост ВП с возрастом лучше описывается не линейным регрессионным уравнением, а моделью степенной функции ($y = 0,99x^{0,149}$, при $R^2 = 0,99$) (рис. 5Б).

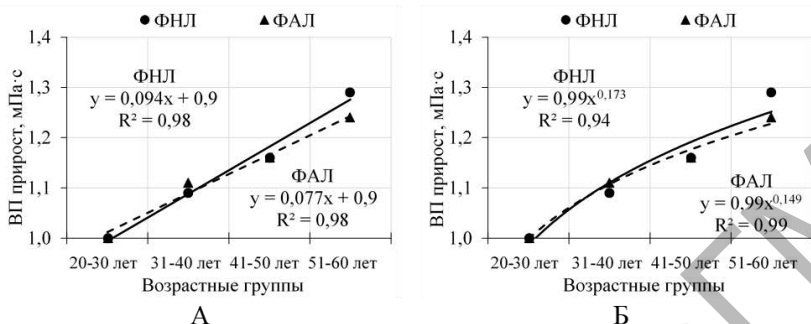


Рисунок 5 – Математические модели, описывающие прирост вязкости плазмы с возрастом в группах физически неактивных лиц (ФНЛ) и физически активных лиц (ФАЛ)

Обозначения: А – линейная регрессия; Б – степенная регрессия.

Таким образом, возрастные изменения важной гемореологической характеристики – вязкости плазмы, описываются разными регрессионными уравнениями. При этом измеренные экспериментальные величины изменений ВП в группах ФНЛ и ФАЛ более точно совпадают с разными видами математических моделей. На уровне микроциркуляции существенное влияние на капиллярную перфузию и транкапиллярный обмен оказывает агрегация эритроцитов. Анализ роли агрегации показывает, что до половины всего венозного сопротивления определяется этим микрореологическим свойством красных клеток крови. Повышение агрегации эритроцитов является одной из причин прироста вязкости крови при низких скоростях сдвига. Агрегация эритроцитов считается одной из важнейших детерминант неньютоновских свойств крови, в том числе в условиях течения *in vivo* [14]. При анализе полученных данных регистрации агрегации эритроцитов и вязкости крови при 6 напряжениях сдвига (в том числе характерных для низких скоростей сдвига) было найдено, что у ФНЛ, имеющих больший показатель агрегации, наблюдается вязкое течение крови с более выраженными неньютоновскими свойствами (рис. 6). Это следует из анализа уравнений, описывающих течение крови как

неньютоновской жидкости, подчиняющейся модели степенного закона. У ФНЛ в группе 51-60 лет агрегация эритроцитов и вязкость крови были выше, чем у ФАЛ, и при низких скоростях сдвига ($\gamma < 20 \text{ с}^{-1}$) оба показателя неньютоновости крови («a» и «n») у них были больше на 19 и 14% соответственно по сравнению с данными ФАЛ того же возраста (рис. 6).

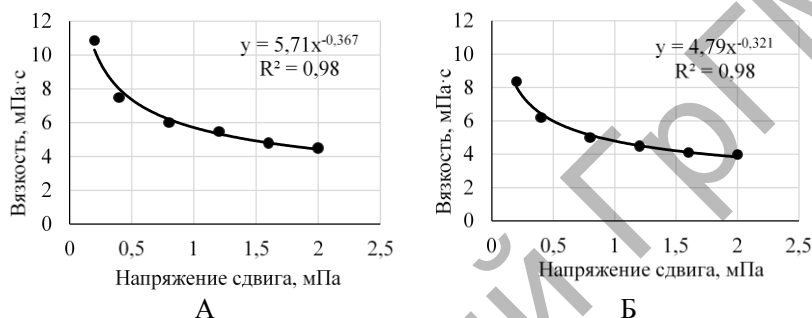


Рисунок 6 – Представление неньютоновского течения крови моделью жидкости степенного закона ($y = ax^{-n}$) в группах ФНЛ (А) и ФАЛ (Б) в возрасте 51-60 лет

При анализе показателей агрегации эритроцитов, зарегистрированных с помощью агрегометра Muegenne, было установлено, что во всех возрастных группах ФАЛ она была меньшей, чем у ФНЛ. При этом разница между соответствующими возрастными группами составляла по двум индексам (ПА1 и ПА2) от 10% до 24% ($p < 0.05$). Наиболее вероятная причина более низкой агрегации эритроцитов у ФАЛ связана не с самими эритроцитами, а с белковым составом плазмы, как агрегирующей среды. Известно, что глобулины и фибриноген обладают проагрегационными свойствами, а альбумины – напротив, ингибируют процесс агрегации эритроцитов [14]. Во всех возрастных группах ФАЛ наблюдали более низкие величины концентраций фибриногена и глобулинов. Соотношение альбумины/глобулины (А/Г коэффициент) было больше на 7-20% у ФАЛ, чем в группах ФНЛ. Последнее особенно важно, поскольку антиагрегационное

значение имеет не простая концентрация альбуминов, а именно их соотношение с глобулинами и фибриногеном. Кроме установленной разницы агрегации эритроцитов между ФНЛ и ФАЛ в каждой возрастной группе, было найдено, что с возрастом показатель агрегации увеличивается. Причем относительно самой молодой популяции, находящихся под наблюдением лиц – 20-30 лет, прирост этой микрореологической характеристики был существенным и достигал в старшей возрастной группе 51-60 лет 72% у ФНЛ и 67% у ФАЛ. При сходном характере изменений агрегации эритроцитов с возрастом у ФНЛ и ФАЛ необходимо еще раз подчеркнуть, что во всех возрастных группах наблюдений данный микрореологический параметр был существенно ниже у ФАЛ. Это важное обстоятельство, которое свидетельствует о том, что, по крайней мере, в посткапиллярном отделе сосудистой системы сопротивление кровотоку у ФАЛ существенно меньше. В состоянии покоя это может быть показателем более эффективной реабсорбции продуктов метаболизма в сосудистый компартмент из клеточного микрорайона. Кроме того, в ряде случаев агрегация эритроцитов положительно сказывается на кровотоке, например, участвует в формировании эффекта Фареуса, снижает гематокрит в микрососудах и тем самым уменьшает вязкое сопротивление потоку в условиях *in vivo*. Так как эндотелиальная функция модулируется напряжением сдвига, действующим на стенки сосуда, то агрегация эритроцитов может повлиять на вязкость и тем самым на радиальное распределение потока эритроцитов в сосуде [14]. Изменение агрегации эритроцитов может влиять на функции эндотелиальных клеток. Это связано с выраженной зависимостью низкосдвиговой вязкости от процесса «агрегация-деагрегация» в потоке крови в сосудах, особенно в венах и коллекторных венах. Колебания вязкости из-за изменений агрегации могут создавать необходимые градиенты напряжений сдвига на эндотелии сосудов для продукции оксида азота [32].

Для понимания возрастных изменений микрореологических характеристик эритроцитов и их способности выполнять транспортные задачи важно иметь в

виду, что эритроциты живут около 120 дней и, следовательно, в кровотоке находятся в определенном соотношении молодые, зрелые и старые клетки. Поэтому старение эритроцитов и старение организма человека не синхронизированы. Известно, что молодые клетки обладают более низкой агрегацией и высокой деформируемостью по сравнению со старыми [33], но поскольку пул эритроцитов постоянно обновляется, то сами по себе они не ответственны за возрастной тренд микрореологии, а на их поведение, вероятно, оказывают влияние внешние факторы, ассоциированные с возрастом: нарастание концентраций проагрегационных белков и холестерина.

Другой важной микрореологической характеристикой эритроцитов является их *способность деформироваться* – изменять форму при прохождении узких капилляров. Важно заметить, что деформация клеток происходит во всех отделах сосудистой системы, однако в истинных капиллярах, где диаметр сосудов может быть меньше диаметра эритроцитов, она имеет решающее значение для тканевой микроперфузии и доставки кислорода [34]. Общую потоковую деформацию определяли у лиц разных возрастных групп путем регистрации вязкости суспензии со стандартным гематокритом ($Hct=40\%$) и постоянной вязкостью суспензионной среды (изотонический раствор NaCl). При таких условиях вязкость суспензии клеток зависит только от их *потоковой деформации*. Наиболее адекватным методом для оценки индивидуальной деформируемости эритроцитов является ее измерение в проточной микрокамере, где клетки, прикрепленные участком мембраны к дну камеры, вытягиваются строго дозированным потоком с точно заданной величиной напряжения сдвига. При этом степень удлинения клеток и служит оценкой их деформируемости.

На основе этих методик мы получили данные, свидетельствующие о том, что потоковая деформация заметно уменьшается с возрастом, тогда как способность эритроцитов к деформации, то есть их деформируемость, изменялась мало (1-5%) на каждом возрастном этапе. Известно, что деформируемость эритроцитов определяется тремя группами

факторов: 1) величиной отношения площади поверхности (S) к объему (V); 2) вязкоэластичностью плазматической мембраны клетки; и 3) вязкостью ее цитоплазмы [34]. Поскольку две первые характеристики изменялись не существенно, то вполне возможно, что значительное влияние на потоковую деформацию и ее изменение с возрастом оказывает вязкость внутреннего содержимого эритроцита, величина которой в основном определяется концентрацией гемоглобина в эритроците (МСНС) и составляет около 6,0 мПа·с. Наличие заметной корреляции ($r=0,78$, $p<0,01$) между вязкостью суспензии эритроцитов и МСНС подтверждает предположение о роли внутренней вязкости в изменении деформации клеток. Кроме того, в группах ФНЛ с возрастом наблюдали заметное увеличение концентрации холестерина в плазме, который участвует в проявлении такого свойства мембраны эритроцита, как эластичность и, следовательно, влияет на их деформируемость. Что касается ФАЛ, то изменения концентрации холестерина у них были менее выраженными и не превышали диапазон колебаний нормальных значений этой биохимической характеристики.

Деформируемость эритроцитов является действительно критической характеристикой не только для микрореологии клеток крови, но и для микроциркуляции с ее задачей обеспечить эффективную тканевую перфузию и доставку кислорода в тканевый микрорайон [35]. Для адекватной оценки ее роли в системе кровообращения важно определить разницу между *деформируемостью* эритроцитов, как их способности изменять (и восстанавливать) форму под действием деформирующей силы и факторов с ней действующих, и *деформацию*, как наблюдаемое изменение формы под влиянием деформирующей силы. Основной деформирующей силой в системе кровообращения является артериальное давление. При этом вязкость плазмы и гематокрит выступают внешними деформирующими факторами и служат трансмиттерами передачи деформирующей силы.

Что касается внешних деформирующих факторов, то с возрастом наблюдается прирост артериального давления и

вязкости плазмы. В старшей возрастной группе в среднем это увеличение составило 16% у ФНЛ и только 9% у ФАЛ. Таким образом, для изменения формы менее эластичных эритроцитов у ФНЛ требуется большая мобилизация внешних движущих сил деформации с возрастом, тогда как более эластичные эритроциты ФАЛ в старшей возрастной группе не требуют выраженной активизации внешних деформирующих факторов.

О разнице в ригидности эритроцитов групп ФНЛ и ФАЛ можно судить на основе расчета индекса их жесткости. При этом важно заметить, что в число компонентов этого уравнения входит относительная вязкость крови или суспензии эритроцитов ($\eta_0 = \text{вязкость крови} / \text{вязкость плазмы}$) и концентрация эритроцитов (С), выраженная как доля от единицы (например, Hct = 40% будет соответствовать величине 0,40). Эти две характеристики относятся к внешним деформирующим факторам, и, следовательно, приведенное выше уравнение позволяет оценить их вклад в деформацию эритроцитов. При анализе данных, полученных на основе решения этого гемореологического уравнения, было выяснено, что в группах ФНЛ и ФАЛ индекс Tk для цельной крови изменялся от одного возрастного периода к другому не более чем на 4% ($p > 0,05$). Что касается индекса Tk, рассчитанного для суспензии эритроцитов с постоянным гематокритом (Hct = 40%) и вязкостью суспензионной среды, то его величина в смежных возрастных группах менялась более заметно (до 9%; $p < 0,05$).

При анализе различий между группами ФНЛ и ФАЛ одного возрастного периода было установлено, что индекс Tk существенно и достоверно меньше у ФАЛ. Эти данные свидетельствуют о том, что даже если стабилизировать внешние деформирующие факторы и сделать их практически одинаковыми для всех возрастных групп ФНЛ и ФАЛ, то у последних эритроциты демонстрируют более высокую деформируемость и, следовательно, эффективнее могут доставлять кислород в тканевые микрорайоны.

Известно, что капилляры не имеют мышечных элементов в своей стенке, следовательно, не могут активно изменять рабочий диаметр. В этом важнейшем отделе

микрососудистого русла для обеспечения трансапиллярного обмена решающее значение имеет деформируемость клеток крови и в первую очередь эритроцитов [10]. Была найдена заметная корреляция ($r = 0,68$; $p < 0,05$) между ИУЭ (индексом удлинения эритроцитов) и МПК/кг. Кроме того, деформируемость эритроцитов (ИУЭ) хорошо коррелирует с индексом транспортной функции крови (Hct/η) ($r = 0,69$; $p < 0,05$), что наблюдали и другие авторы [13].

Анализ всего комплекса макро- и микрореологических характеристик крови показал, что с возрастом изменяются все параметры гемореологического профиля. Вместе с тем, если макрореологические характеристики, такие как вязкость цельной крови при относительно высоких ($\gamma > 100 \text{ с}^{-1}$) и низких скоростях сдвига ($\gamma < 20 \text{ с}^{-1}$), гематокрит, вязкость плазмы могут изменяться синхронизировано с общей возрастной динамикой, то микрореологические свойства эритроцитов (их агрегация и деформируемость) должны зависеть от их собственного возраста. За период своей жизни в кровотоке, который продолжается около 120 дней, они проходят возрастные стадии «молодых», среднего возраста («зрелые» эритроциты) и «старых» клеток [33].

При сравнении микрореологических характеристик эритроцитов, разделенных в градиенте плотности на молодые (10% верхней фракции после центрифугирования), старые (10% нижней фракции) и зрелые (остальной объем колонки после центрифугирования), была выявлена разница в деформируемости клеток (рис. 7). Так, у молодых эритроцитов индекс удлинения (ИУЭ) был равен в среднем $0,256 \pm 0,002$ отн. ед., тогда как у старых клеток он был на 20% меньше ($p < 0,01$) и составил в среднем $0,205 \pm 0,003$ отн. ед. Что касается самой многочисленной популяции – зрелых клеток, то их средний индекс деформируемости был равен $0,237 \pm 0,02$ отн. ед., что на 8% меньше, чем у молодых эритроцитов ($p < 0,05$). Важно заметить, что разница между старыми и зрелыми клетками по деформируемости была равной 10%, то есть сопоставима с разницей зрелых и молодых эритроцитов.

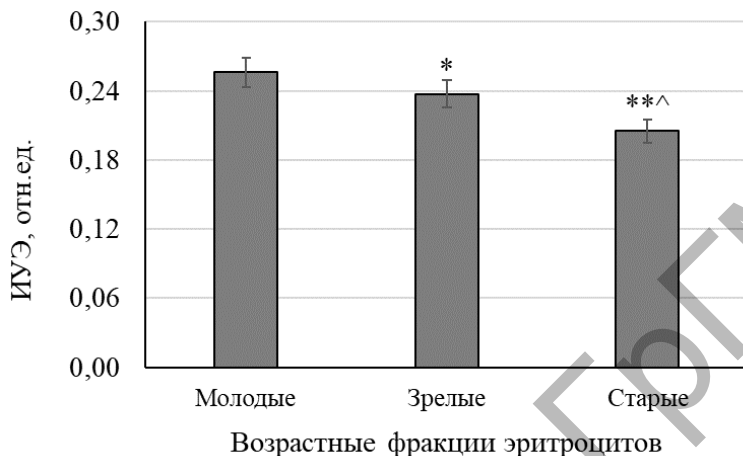


Рисунок 7 – Величины деформируемости эритроцитов, разделенных на фракции молодых, зрелых и старых клеток. Обозначения: * - различия с фракцией «молодых» эритроцитов статистически достоверны при $p < 0,05$; ** - различия с фракцией «молодых» эритроцитов статистически достоверны при $p < 0,01$; ^ - различия с фракцией «зрелых» эритроцитов статистически достоверны при $p < 0,05$.

Микрореологические наблюдения в проточной микрокамере показали, что старые клетки сохранили свою способность вытягиваться под влиянием приложенного напряжения сдвига текущей жидкости, однако в меньшей степени (в среднем на 20%), чем молодые эритроциты, и на 14% меньше зрелых клеток общей популяции. Таким образом, старые эритроциты вытягивались меньше, чем их более молодые аналоги при тех же величинах напряжения сдвига, таким образом демонстрируя пониженный уровень деформируемости. Изменение этого микрореологического свойства эритроцитов связывают с увеличением вязкости мембраны и модуля упругости наряду со значительной потерей избыточной площади поверхности [34].

Поскольку молодые клетки существенно эластичнее зрелых и старых, то это может объяснить более высокую в

целом деформируемость эритроцитов у ФАЛ во всех возрастных группах по сравнению с ФНЛ. Известно, что аэробная мышечная тренировка увеличивает популяцию молодых эритроцитов за счет более интенсивного эритропоэза. Поскольку обновление состава красных клеток крови у ФАЛ происходит значительно быстрее, чем у ФНЛ, то сокращается время их пребывания в кровотоке. По данным [36], средняя продолжительность жизни эритроцитов у спортсменов, тренирующихся на выносливость, составила 67 дней, тогда как в контроле 113 (лица, ведущие сидячий образ жизни). Более того, показано, что аэробные физические нагрузки увеличивают деформируемость молодых эритроцитов, а старые клетки, напротив, становятся более ригидными. Полагают, что это может быть связано с изменением чувствительности эритроцитов к оксиду азота в результате тренировки [37]. Этот газотрансмиттер существенно влияет на микрореологию клеток, повышая их деформируемость и снижая агрегацию [38], особенно старых эритроцитов.

Заключение

Проведенное комплексное исследование показало, что если к процессу старения добавить регулярные дозированные аэробные мышечные нагрузки, то этот дополнительный фактор не только не увеличивает негативное «давление» на, снижающие с возрастом свои функциональные резервы, системы организма, но, напротив, формирует положительные долговременные адаптационные эффекты. Полученные результаты демонстрируют принципиальные различия двух линий возрастных изменений системы кровообращения в период от 20 до 60 лет: 1) у ФНЛ, реализующих главным образом генетическую программу этого процесса, и 2) ФАЛ, у которых возрастные изменения сочетаются с постоянно действующим дополнительным фактором – регулярным воздействием аэробной мышечной работы. Сравнительный анализ двух указанных стратегий показал, что снижение физической активности хотя и представляется типичным для современного человека, но при этом не является естественным

фактором, а наблюдаемое уменьшение функциональных резервов организма с возрастом и темпы их снижения могут быть связаны не столько с угасанием функций, сколько с недостаточной их упражняемостью.

Библиографический список

1. Белозерова, Л. М. Работоспособность и возраст. / Л. М. Белозёрова. Том избранных трудов. – Пермь, 2001. – 328 с.

2. Сиротин, А. Б. Влияние двигательной активности на старение мужчин зрелого возраста / А. Б. Сиротин, Л. М. Белозерова, Г. М. Щепина // Лечебная физкультура и спортивная медицина. – 2009. – № 6. – С. 21–24.

3. Valenzuela, P. L. Lifelong endurance exercise as a countermeasure against age-related decline: physiological overview and insights from masters athletes / P. L. Valenzuela, N. A. Maffiuletti, M. J. Joyner et al. // Sports Med. – 2019. – Vol. 24. doi: 10.1007/s40279-019-01252-0.

4. WHO. World report on ageing and health [internet] / <https://www.who.int/ageing/publications/world-report-2015/ru/>

5. Сонькин, В. Д. Проблема оценки физической работоспособности / В. Д. Сонькин // Вестник спортивной науки. – 2010. – № 2. – С. 37.

6. Апанасенко, Г. Л. Соматическое здоровье и максимальная аэробная способность индивида / Г. Л. Апанасенко, Р. Г. Наumenко // Теория и практика физкультуры. – 1988. – № 4. – С.29–31.

7. Федорович, А. А. Микрососудистое русло кожи человека как объект исследования / А. А. Федорович // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 11–26.

8. Stanhewicz, A. E. Local tetrahydrobiopterin administration augments reflex cutaneous vasodilation through nitric oxide-dependent mechanisms in aged human skin // A. E. Stanhewicz, R. S. Bruning, C. J. Smith et al. // J. Appl. Physiol. (1985). – 2012. – Vol. 112, № 5. – P. 791–7. doi: 10.1152/jappphysiol.01257.2011.

9. Dopheide, J. F. Supervised exercise training in peripheral arterial disease increases vascular shear stress and profunda femoral artery diameter / J. F. Dopheide, J. Rubrech, A. Trumpp et al. // *Eur. J. Prev. Cardiol.* – 2017. – Vol. 24. – P. 178–191.

10. Муравьев, А. В. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия / А. В. Муравьев, П. В. Михайлов, И. А. Тихомирова // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* – 2017. – Т. 16. № 2 (62). – С. 90–100.

11. Baskurt, O. K. In vivo correlates of altered blood rheology / O. K. Baskurt // *Biorheology.* – 2008. – Vol. 45, № 6. – P. 629–638.

12. Premont, R. T. Role of nitric oxide carried by hemoglobin in cardiovascular physiology: developments on a three-gas respiratory cycle / R. T. Premont, J. D. Reynolds, R. Zhang, J. S. Stamler // *Circulation Research.* – 2019. – Vol. 126, № 1. – P. 129–158. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315626

13. Brun, J. F. Hemorheological alterations related to training and overtraining / J. F. Brun, E. Varlet-Marie, P. Connes et al. // *Biorheology.* – 2010. – Vol. 47, № 2. – P. 95–115. doi: 10.3233/BIR-2010-0563.

14. Baskurt, O. K. Hemodynamic effects of red blood cell aggregation / O. K. Baskurt, H. J. Meiselman // *Indian J. Exp. Biol.* – 2007. – Vol. 45, № 1. – P. 25–31.

15. Simmonds, M. J. Nitric oxide, vasodilation and the red blood cell / M. J. Simmonds, J. A. Detterich, P. Connes // *Biorheology.* – 2014. – Vol. 51, №2-3. – P. 121–134.

16. Salazar Vázquez, B. Y. Nonlinear cardiovascular regulation consequent to changes in blood viscosity / B. Y. Salazar Vázquez, P. Cabrales, A. G. Tsai, M. Intaglietta // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* – 2011. – Vol. 49, №1-4. – P. 29–36.

17. Белоцерковский, З. Б. Сердечная деятельность и функциональная подготовленность у спортсменов (норма и атипичные изменения в нормальных и измененных условиях адаптации к физическим нагрузкам) / З. Б. Белоцерковский, Б. Г. Любина. – М.: Советский спорт, 2012. – 548 с.

18. Vasan, R. S. Association of leukocyte telomere length with circulating biomarkers of the renin-angiotensin-aldosterone system:

the framingham heart study / R. S. Vasan, S. Demissie, M. Kimura et al. // *Circulation*. – 2008. – Vol. 117, № 9. – P. 1138–44.

19.Nader, E. Blood rheology: key parameters, impact on blood flow, role in sickle cell disease and effects of exercise / E. Nader, S. Skinner, M. Romana et al. // *Front Physiol*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1329. doi: 10.3389/fphys.2019.01329.

20.Houghton, D. The effect of age on the relationship between cardiac and vascular function / D. Houghton, T. W. Jones, S. Cassidy et al. // *Mech. Ageing Dev*. – 2016. – Vol. 153. – P. 1–6. doi: 10.1016/j.mad.2015.11.001.

21.Ma, C. Moderate exercise enhances endothelial progenitor cell exosomes release and function / Ma C, Wang J, Liu H, et al. // *Med Sci Sports Exerc*. – 2018. – Vol. 50, № 10. – P. 2024-2032. doi: 10.1249/MSS.0000000000001672.

22.Miura, S. Overexpression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha down-regulates GLUT4 mRNA in skeletal muscles / S. Miura, Y. Kai, M. Ono, O. Ezaki // *J. Biol. Chem*. – 2003. – Vol. 278. – P. 31385–31390.

23.Wagenmakers, A. J. Increased muscle blood supply and transendothelial nutrient and insulin transport induced by food intake and exercise: effect of obesity and ageing / A. J. Wagenmakers, J. A. Strauss, S. O. Shepherd et al. // *J. Physiol*. – 2016. – Vol. 594, № 8. – P. 2207–22. doi: 10.1113/jphysiol.2014.284513.

24.Kenney, W. L. Edward F. Adolph Distinguished Lecture: Skin-deep insights into vascular aging / W. L. Kenney // *J. Appl. Physiol*. (1985). – 2017. – Vol. 123, № 5. – P. 1024-1038. doi: 10.1152/japplphysiol.00589.2017.

25.Heinonen, I. Myocardial blood flow and its transit time, oxygen utilization, and efficiency of highly endurance-trained human heart / I. Heinonen, N. Kudomi, J. Kemppainen et al. // *Basic Res. Cardiol*. – 2014. – Vol. 109, № 4. – P. 413. doi: 10.1007/s00395-014-0413-1.

26.Küçük, M. F. Is age-related macular degeneration a local manifestation of systemic disorder? Changes in nailfold capillaries at age-related macular degeneration / M. F. Küçük, A. Ayan, D. Toslak et al. // *Ir. J. Med. Sci*. – 2019. doi: 10.1007/s11845-019-02109-1.

27. Trappe, S. New records in aerobic power among octogenarian lifelong endurance athletes / S. Trappe, E. Hayes, A. Galpin et al. // *J. Appl. Physiol.* (1985). – 2013. – Vol. 114, № 1. – P. 3–10.

28. Simmons, G. H. Changes in the control of skin blood flow with exercise training: where do cutaneous vascular adaptations fit in? / G. H. Simmons, B. J. Wong, L. A. Holowatz, W. L. Kenney // *J. Exp. Physiol.* – 2011. – Vol. 96, № 9. – P. 822–828. doi: 10.1113/expphysiol.2010.056176.

29. Ellsworth M.L. Erythrocytes: oxygen sensors and modulators of vascular tone / M. L. Ellsworth, C.G. Ellis, D. Goldman et al. // *Physiology.* – 2009. – № 24. – P. 107–116.

30. Михайлов, П. В. Взаимосвязь возрастных изменений гемореологических характеристик с режимом двигательных активности / А.В. Муравьев, И.А. Осетров, С.В. Булаева, Р.В. Васин // *Физкультура. Спорт. Здоровье: Материалы конференции «Чтения Ушинского» факультета физической культуры ЯГПУ – Ярославль: Изд-во «Канцлер», 2019. – С.104–109.*

31. Bizjak, D. A. Increase in red blood cell-nitric oxide synthase dependent nitric oxide production during red blood cell aging in health and disease: a study on age dependent changes of rheologic and enzymatic properties in red blood cells / D. A. Bizjak, C. Brinkmann, W. Bloch et al. // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 4. – P. e0125206. doi: 10.1371/journal.pone.0125206.eCollection 2015.

32. Yalcin, O. Nitric oxide generation by endothelial cells exposed to shear stress in glass tubes perfused with red blood cell suspensions: role of aggregation / O. Yalcin, P. Ulker, U. Yavuzer // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2008. – Vol. 294, № 5. – P. 2098–2105.

33. Lang, F. Ceramide in suicidal death of erythrocytes / F. Lang, E. Gulbins, P. A. Lang et al. // *Cell Physiol. Biochem.* – 2010. – Vol. 26. – P. 21–28.

34. Mohandas, N. Red cell membrane: past, present, and future / N. Mohandas, P. G. Gallagher // *Blood.* – 2008. – Vol. 112, № 10. – P. 3939–3948.

35. Muravyov, A. V. Role of molecular signaling pathways in changes of red blood cell deformability / A. V. Muravyov, I. A. Tikhomirova // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2013. – Vol. 53 – P. 45–59.

36. Weight, L. M. Haemolytic effects of exercise / L. M. Weight, M. J. Byrne, P. Jacobs // Clin. Sci. (Lond). – 1991. – Vol. 81, № 2. – P. 147–52.

37. Filipovic, A. Influence of whole-body electrostimulation on the deformability of density-separated red blood cells in soccer players / A. Filipovic, D. Bizjak, F. Tomschi et al. // Front physiol. – 2019. – Vol. 10. – P. 548. doi: 10.3389/fphys.2019.00548.

38. Muravyov, A. V. Cellular models of erythrocytes for studying the effect of gasotransmitters on their microrheology / A. V. Muravyov, I. A. Tikhomirova P. V. Avdonin et al. // Journal of Cellular Biotechnology. – 2019. – Vol. 5, № 1. – P. 3–10.

Глава 7. РОЛЬ СЕРОВОДОРОДА В СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЕ

И.А. Тихомирова

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского»

Сероводород, по аналогии с другими известными на сегодняшний день газотрансмиттерами (NO и CO) до последнего времени относили к токсичным для организма газам и скорее к ненужным и ядовитым продуктам метаболизма, до тех пор, пока не было установлено, что практически все формы жизни, начиная от бактерий и заканчивая человеком, продуцируют или накапливают эти молекулы газов для реализации специфических функций [1].

Высокая токсичность сероводорода, сравнимая по эффекту с действием монооксида углерода и цианидов, известна с давних времен [2], и наиболее выраженное вредное воздействие изначально было отмечено для центральной нервной системы [3]. Основным механизмом, обуславливающим токсическое влияние H_2S , считается ингибирование митохондриального дыхания посредством блокады цитохром-с-оксидазы [4].

Признание сероводорода третьим эндогенным газотрансмиттером (наряду с оксидом азота и монооксидом углерода) с функциями сигнальной молекулы стало возможным после опубликования результатов исследования [5], продемонстрировавших, что в физиологической концентрации сероводород способствует длительному потенцированию гиппокампа в нервной системе, действуя как нейромодулятор.

Газотрансмиттеры представляют собой уникальный класс простых газовых молекул, которые способны легко проникать сквозь клеточную мембрану, что обусловлено их хорошей растворимостью в липидах (Растворимость H_2S в липидах, например, в 5 раз превосходит его растворимость в воде). Благодаря такой легкости проникновения этих газов в клетку, отпадает необходимость в участии мембранных рецепторов и их

внутриклеточном депонировании, поэтому основным механизмом регуляции их содержания в клетке становится влияние на процесс их синтеза. Как и другие газотрансммиттеры, сероводород проявляет широкий спектр специфических регуляторных влияний на жизненно важные органы и системы [6].

В организме человека эндогенный сероводород продуцируется как энзиматическим путем, так и без участия энзимов, и его концентрации варьируют в разных тканях и клетках, оставаясь постоянными и необходимый уровень обеспечивается балансом между синтезом и расходом газовых молекул [7,8].

Считается, что три ключевых энзима цистатионин-γ-лиаза (CSE), цистатионин-β-синтаза (CBS) и 3-меркаптопируватсульфотрансфераза (3MST), катализирующие превращение цистеина и его производных в сероводород, вносят основной вклад в поддержание гомеостаза H_2S . Экспрессия этих энзимов отличается в зависимости от типа тканей: так в нервной системе преобладает CBS, в сердечно-сосудистой системе H_2S продуцируется в основном с участием CSE. В гладкомышечных клетках кровеносных сосудов, сокращение и расслабление которых обеспечивает изменение тонуса последних, синтез сероводорода осуществляет фермент CSE, а в эндотелиальных клетках, выстилающих изнутри просвет сосуда, – 3MST [9].

Не энзиматический процесс генерации сероводорода менее изучен, однако есть свидетельства тому, что в физиологических условиях в эритроцитах имеет место продукция сероводорода из серосодержащих аминокислот (цистеина) с участием витамина B_6 и железа [10].

Грань между физиологическими и токсическими эффектами сероводорода достаточно тонкая, поэтому биодоступность этого газотрансммиттера требует четкого и дифференцируемого в зависимости от типа ткани контроля и регуляции в соответствии со специфическими физиологическими функциями определенного органа. Молекула H_2S отличается высокой химической активностью и реакционной способностью, она достаточно легко

синтезируется и быстро утилизируется после выполнения сигнальной функции. В живых клетках H_2S метаболизируется посредством метилирования в цитозоле или окисляется в митохондриях, а в эритроцитах сероводород может захватываться метгемоглобином с образованием сульфгемоглобина [11].

Подобно оксиду азота (NO) и монооксиду углерода (CO) H_2S играет важную роль не только в физиологических условиях, но и в патогенезе ряда заболеваний [12]. Сероводород принимает активное участие в регуляции жизненно важных функций, проявляя свое влияние не только в сердечно-сосудистой системе; его разнообразные эффекты описаны для нервной и дыхательной систем, в процессах регуляции обмена веществ, функций печени, почек, репродуктивной системы, доказан выраженный противовоспалительный и антиоксидантный эффекты, а также участие в процессе транспорта электронов в митохондриях и клеточной биоэнергетике [13].

Сердечно-сосудистые заболевания считаются многофакторными, однако основными факторами в их патогенезе являются нарушения функций сердца и кровотока. Многочисленные исследования терапевтического потенциала H_2S при сердечно-сосудистой патологии продемонстрировали, что сероводород в физиологических концентрациях играет важную роль в поддержании нормального функционирования и гомеостаза сердечно-сосудистой системы. Тесная взаимосвязь между уровнем эндогенного сероводорода и повышенным риском неблагоприятного исхода при сердечно-сосудистых заболеваниях зафиксирована в ряде исследований [14, 15].

Показано, что продукция эндогенного H_2S или применение его доноров оказывает выраженное влияние на течение сердечно-сосудистых заболеваний, например, в случае атеросклероза, артериальной гипертензии, ишемии миокарда или сердечной недостаточности [7].

Экспрессия основных энзимов, катализирующих образование сероводорода, таких как цистатионин- β -синтаза, цистатионин- γ -лиаза и 3-меркаптосульфуртрансфераза во всех

тканях сердечно-сосудистой системы (в сосудистой системе, сердце и клетках крови), а также присутствие H_2S во всех этих тканях убедительно свидетельствуют в пользу того, что сердечно-сосудистая система является источником эндогенного сероводорода [16, 17].

По результатам постоянно растущего числа исследований по оценке эффектов сероводорода в сердечно-сосудистой системе становится понятно, что эта малая газовая молекула участвует в разных процессах, затрагивающих различные типы тканей и клеток, которые реализуются посредством разнообразных механизмов [17]. Некоторые механизмы и пути трансдукции сигнала удалось идентифицировать, однако большая часть этих процессов требует детального изучения. Постепенно укрепляющееся понимание биологической и клинической значимости сероводорода в поддержании гомеостаза сердечно-сосудистой системы позволит прояснить неизвестные аспекты патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний и обеспечит новые подходы к разработке инновационных методов их лечения.

Влияние сероводорода на деятельность сердца

Сероводород как кардиопротектор

Результаты современных исследований убедительно свидетельствуют о том, H_2S оказывает защитное действие в отношении миокарда при аритмии, гипертрофии миокарда, фиброзе миокарда, инфаркте миокарда, при ишемии-реперфузии и сердечной недостаточности, тем самым демонстрируя кардиопротекторный эффект [18].

Доказано, что повышенный уровень сероводорода в тканях миокарда, который формируется либо посредством его эндогенной продукции, либо при экзогенном поступлении, предотвращает его ишемическое повреждение, защищая сердце. Механизмы такого защитного действия сероводорода пока до конца не изучены, однако установлены молекулярные механизмы, обеспечивающие его сосудорасширяющее, антиоксидантное, антиапоптотическое, противовоспалительное действие и влияющие на клеточный метаболизм [7].

Кардиопротекторный эффект сероводорода, выражающийся в уменьшении зоны повреждения миокарда при ишемии/реперфузии, продемонстрирован в ряде экспериментальных работ как в *in vitro*, так и в *in vivo* исследованиях [19]. При инфаркте миокарда кислородное снабжение сердечной мышцы нарушается вследствие повреждения коронарных артерий, вызывая ишемию и некроз миокарда. В модельных опытах на грызунах было продемонстрировано, что введение сероводорода снижает смертность и уменьшает размеры зоны некротического поражения миокарда. Это обеспечивается сосудорасширяющим эффектом сероводорода, который способствует интенсификации кровотока в коронарных артериях при ишемии, снижая тем самым объем повреждений кардиомиоцитов.

Кроме того, получены свидетельства того, что H_2S стимулирует процессы ангиогенеза и формирование новых кровеносных сосудов, способствуя миграции эндотелиальных клеток, что также вносит свой вклад в кардиопротекторное действие этого газа [17]. Было показано, что введение экзогенного L-цистеина снижает размер повреждения при инфаркте миокарда при ишемической болезни сердца; считается, что защитный эффект L-цистеина обусловлен увеличением эндогенной продукции H_2S , катализируемой CSE, поскольку при ингибировании активности CSE пропаргилглицином (PPG) этот эффект L-цистеина полностью нивелируется [17]. Аналогичные изменения были зафиксированы и при использовании экзогенного донора сероводорода $NaHS$, который также способствовал вазодилатации коронарных артерий, увеличивая в них объемный кровоток при ишемии и снижая клеточные повреждения миокарда [12].

Установлено, что сероводород активирует АТФ-зависимые K^+ -каналы в митохондриях и сарколемме кардиомиоцитов, что также обеспечивает кардиопротекторный эффект.

Экзогенное введение сероводорода, эндогенное или экзогенное повышение экспрессии CSE, любые способы

модулирования содержания H_2S в сторону его повышения, демонстрируют терапевтический эффект при ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности [20]. Положительный терапевтический эффект H_2S был показан на моделях ишемического повреждения: как прекондиционирование, так и посткондиционирование с соединениями, высвобождающими свободный сероводород ($NaHS$, Na_2S and GYY4137) при ишемии/реперфузии миокарда способствовали снижению размеров очага некротического повреждения. Было высказано предположение, что механизмы, обеспечивающие такое протекторное действие, включают активацию антиоксидантной системы и задействуют сигнальные пути антиапоптотической и противовоспалительной направленности [21].

Хронотропный и инотропный эффекты H_2S

Опубликованные данные по влиянию сероводорода на частоту сердечных сокращений достаточно противоречивы. В некоторых исследованиях было продемонстрировано снижение ЧСС за счет ингибирования клеток-пейсмекеров синоатриального узла у кроликов. Этот отрицательный хронотропный эффект блокировался при использовании ингибитора КАТР-каналов глибенкламида ($20 \mu M$), подтверждая вовлеченность этих каналов в реализацию хронотропного эффекта H_2S [22].

Уменьшение ЧСС под влиянием H_2S способствует снижению потребления энергии, уменьшает нагрузку на сердце благодаря снижению силы сокращения и/или уменьшению энергии мышечного сокращения, поэтому отрицательный хронотропный эффект особенно благоприятен в случае стенокардии. Применение донора сероводорода $NaHS$ оказывает благоприятное действие при аритмии, ассоциированной с повреждением миокарда при ишемии/реперфузии.

В экспериментах на изолированных кардиомиоцитах было продемонстрировано, что в присутствии $40 \mu M NaHS$ возрастает вероятность открытия K_{ATP} - каналов [23].

С другой стороны, приводятся экспериментальные свидетельства того, что сероводород не оказывает значимого хронотропного воздействия в низких концентрациях. Так экспериментально было показано, что ЧСС у крыс остается практически неизменной при использовании H_2S в низких концентрациях, хотя при аналогичных воздействиях артериальное давление у них значительно снижается [24].

Потенциал действия клеток-пейсмекеров у кроликов не претерпел существенных изменений при блокаде эндогенной продукции сероводорода пропаргилглицином (PPG) [25].

Противоречивые данные о направленности хронотропного эффекта сероводорода у крыс при сопоставимых концентрациях и времени действия представлены в литературе – так Kohno et al. отметили отрицательный хронотропный эффект у крыс, экспонированных в течение 1 часа при 75 ppm H_2S [26]. Противоположный – положительный – хронотропный эффект был зафиксирован в другом исследовании, где крысы в течение 1 часа находились под воздействием 100–200 ppm H_2S [27].

Что касается инотропного эффекта, то в ряде публикаций по результатам *in vivo* и *in vitro* исследований отражено проявление отрицательного инотропного эффекта сероводорода у крыс, возможный механизм реализации которого может быть обусловлен блокированием потенциал-зависимых Ca^{2+} - каналов и ингибированием аденилатциклазы, продуцирующей цАМФ – важнейший вторичный мессенджер, регулирующий сократимость кардиомиоцитов [17]. В исследовании на изолированном сердце крысы было показано, что H_2S вызывает отрицательный инотропный эффект при необратимом повреждении в ходе ишемии/реперфузии, снижая центральное венозное давление и тем самым защищая сердце от повреждения [28]. Сходный эффект был зафиксирован в исследовании на модели *in vivo* у мышей, получавших 1 мг/кг NaHS в ходе реперфузии [29].

Большинство исследователей пришло к заключению, что открытие АТФ-зависимых калиевых каналов в миокарде играет ключевую роль в реализации отрицательного инотропного эффекта H_2S , поскольку при использовании отмечено

ингибирование этого эффекта сероводорода в присутствии классического блокатора этих каналов глибенкламида. Это также согласуется с проявлением отрицательного инотропного эффекта при действии других активаторов K_{ATP} – каналов, вызывающих гиперполяризацию клеточной мембраны [22].

Однако в других исследованиях не удалось зафиксировать отрицательный инотропный эффект сероводорода. Например, было показано отсутствие значимого эффекта NaHS на сократимость изолированных вентрикулярных кардиомиоцитов крысы *in vitro*. В этих изолированных кардиомиоцитах отрицательный инотропный эффект был зафиксирован для нитропруссид натрия (донора NO) и L-аргинина, а также положительный инотропный эффект для изопротеренола (агониста β -адренорецепторов). Интересно, что и отрицательный инотропный эффект NO, и положительный инотропный эффект изопротеренола снижались в присутствии NaHS. Физиологическое значение NaHS в таком «выравнивании» отрицательного и положительного инотропных влияний на сердце еще предстоит выяснить [30].

Сероводород и сосудистая система

Сероводород как сенсор кислорода

Есть экспериментальные свидетельства того, что H_2S принадлежит важная роль в детекции гипоксии, однако механизмы того, как сероводород может обнаруживать дефицит кислорода и реагировать на это, еще недостаточно изучены. Было высказано предположение о том, что эффективный механизм детекции недостатка кислорода может быть обусловлен кислород-зависимым метаболизмом H_2S . В основе определения дефицита кислорода могут лежать реципрокные взаимосвязи между концентрациями сероводорода и кислорода в тканях [31].

Результаты исследований электрических и механических ответов изолированных кровеносных сосудов на недостаток кислорода позволяют предположить, что сероводород действует как сенсор кислорода и обеспечивает трансдукцию сигнала в процессе сосудистого ответа на гипоксию. Экспериментальные

данные свидетельствуют о том, что у позвоночных реакция сосудов на гипоксию уменьшается при ингибировании синтеза H_2S и уровень сероводорода в сосудистой системе регулируется посредством поддержания баланса между эндогенно продуцируемым H_2S и его окислением под действием доступного O_2 [31].

Гипоксия-индуцибельные факторы (HIF) выступают в качестве ключевых регуляторов уровня кислорода, так как в условиях гипоксии они активируют экспрессию генов-мишеней. Недавними исследованиями продемонстрировано, что подобно NO и CO, H_2S вносит существенный вклад в регуляцию функций HIF-1 при гипоксии. В клетках млекопитающих HIF-1 является главным регулятором гипоксии, поскольку активирует более 100 генов-мишеней в условиях недостатка кислорода [32]. Опосредуемый H_2S ангиогенез при гипоксии включает активацию HIF-1 [33]. Получены убедительные свидетельства защитной роли сероводорода для многих органов млекопитающих в гипоксических условиях, однако механизмы, посредством которых H_2S реализует функцию сенсора кислорода и инициирует регуляторный ответ, остаются недостаточно изученными. Экспериментально показано, что экзогенный H_2S регулирует активность HIF разными способами. Известно, что активация каротидных телец – весьма чувствительный и быстрый механизм ответа на дефицит кислорода, который позволяет оперативно восстановить общее кислородное обеспечение. Уникальная роль каротидных телец в детекции кислорода обусловлена их высокой чувствительностью и быстрой реакцией на гипоксию. Было показано, что H_2S выступает в качестве возбуждающего медиатора при детекции кислорода каротидными тельцами [34]. При контакте с кислородом или перекисью водорода H_2S легко превращается в полисульфиды. Пока не совсем понятно, вовлечены ли полисульфиды в опосредуемые сероводородом реакцию каротидных телец и регуляцию функций HIF [35].

Сероводород и ангиогенез

Пролиферация и миграция эндотелиальных клеток в ответ на определенный стимул – чрезвычайно важные процессы в эмбриогенезе, ангиогенезе, заживлении ран, ишемии тканей и при различных воспалительных заболеваниях. Пролиферация гладкомышечных клеток сосудов ингибируется сероводородом, а пролиферация и миграция эндотелиальных клеток в культуре или в сосудистой стенке стимулируется H_2S . Культура эндотелиальных клеток пупочной вены человека (HUVEC) и bEnd3 микрососудистые эндотелиоциты демонстрируют повышенную пролиферативную и миграционную активность и способность к заживлению ран после обработки NaHS, подтверждая стимулирующий эффект H_2S на клетки эндотелия [36].

Эндогенная продукция сероводорода также играет важную роль в процессах миграции и роста эндотелиальных клеток. Нокаут по CSE вызывал замедление скорости пролиферации эндотелиоцитов пупочной вены человека и аортальных эндотелиальных клеток у мышей, в то время как сверхэкспрессия CSE давала обратный эффект [37].

На модели ишемии задней конечности крысы было показано, что 4-недельное применение NaHS заметно стимулирует рост коллатеральных сосудов, повышает плотность капилляров и улучшает периферический кровоток ишемизированной конечности в сравнении с контролем [38]. Тем не менее, несмотря на убедительные экспериментальные подтверждения регуляторной роли соединений серы в процессах пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, требуются дополнительные исследования в этом направлении.

Использование в экспериментальных исследованиях соединений, высвобождающих сероводород (например, NaHS) не гарантирует, что при этом фиксируется биологический эффект, вызванный свободным H_2S , особенно, если эффект проявляется через несколько часов или даже суток после обработки, поскольку в этом случае стимулирующее пролиферацию и миграцию влияние доноров сероводорода может быть обусловлено действием его окисленных метаболитов [36].

Продуцирующие сероводород ферменты тесно связаны с базовым клеточным метаболизмом, включая синтез аминокислот и окислительно-восстановительный баланс, что также оказывает влияние на процессы пролиферации и миграции, и это необходимо учитывать при рассмотрении роли сероводорода как газотрансмиттера либо как генератора полисульфидов [37].

Регуляция сосудистого тонуса и артериального давления

Одним из первых выявленных благоприятных физиологических эффектов H_2S стало его влияние на сосудистый тонус и, благодаря этому, регулирующее воздействие на давление крови [25]. Как сам сероводород, так и соединения, его высвобождающие, хорошо известны как вещества, способствующие вазодилатации, смягчающие гипоксическую легочную гипертензию, уменьшающие адгезию лейкоцитов к сосудистой стенке, снижающие сосудистый рестеноз и обладающие противовоспалительным эффектом [39].

Реализуя свое регуляторное действие в артериальных сосудах, H_2S играет важную роль в регуляции кровяного давления [40]. Использование ингаляций сероводорода у пациентов с артериальной гипертензией способствовало снижению кровяного давления [41], внутривенное болюсное введение раствора сероводорода вызывало дозозависимое снижение артериального давления у крыс [11]. В *in vitro* исследованиях донор сероводорода $NaHS$, традиционно применяемый в экспериментальной практике, также приводил к дилатации различных сосудов: аорты, почечных и брыжеечных артерий, воротной вены и т.д.

Несмотря на хорошо известную роль эндотелия в регуляции сосудистого тонуса, его удаление не оказало значимого влияния на эффект H_2S на гладкие миоциты сосудов [11], что свидетельствует о прямом воздействии сероводорода на гладкую мускулатуру сосудистой стенки с вовлечением свойственных ей регуляторных механизмов. Было показано, что как эндотелий, так и гладкомышечные элементы сосудистой

стенки способны продуцировать сероводород, хотя H_2S может проявлять вазодилатационный эффект посредством эндотелий-независимых механизмов [17]. Сосудорасширяющее влияние H_2S на гладкие миоциты главным образом связывают с открытием АТФ-зависимых калиевых каналов [5].

Однако было установлено, что сосудорасширяющий эффект сероводорода зависит не только от активации K_{ATP} -каналов, поскольку глибенкламид лишь частично уменьшает вазодилатацию, вызванную $NaHS$. Было показано, что вазодилатационный ответ в значительной степени ингибируется в присутствии блокаторов $Kv7$ -каналов линопирдина и XE-991, что свидетельствует о вовлеченности этого типа калиевых каналов в реализацию эффекта сероводорода. $Kv7$ каналы обильно экспрессированы в гладкомышечных клетках сосудистой стенки и в настоящее время рассматриваются как ключевой элемент в регуляции сократимости кровеносных сосудов. Активация сосудистых $Kv7$ каналов вносит основной вклад в релаксацию сосудов под действием $NaHS$ в тканях аорты крысы и человека [42].

В последнее десятилетие была подтверждена важная роль $Kv7$ ($KCNQ$) потенциал-зависимых калиевых каналов в регуляции возбудимости гладких миоцитов, было высказано предположение, что понижающая регуляция этих $Kv7$ каналов может вносить определенный вклад в повышение артериального давления при гипертензии. Поэтому фармакологическая активация остаточных $Kv7$ каналов может стать основой нового терапевтического подхода к лечению гипертензии [43].

Роль сероводорода в патогенезе гипертензии спонтанно гипертензивных крыс (SHR) была изучена, гипертензия у этих животных развивалась спонтанно с уменьшением продукции сероводорода и экспрессии CSE в тканях аорты и снижением содержания H_2S в плазме крови [44]. Применение $NaHS$ в течение 5 недель замедлило развитие гипертензии у SHR и частично обратило вызванные гипертензией ремоделирование сосудов и накопление коллагена [45].

Для доказательства физиологического значения эндогенного H_2S можно использовать метод подавления его

эндогенной продукции с анализом изменений фенотипа. У мышей с генетической делецией CSE продукция H_2S в сердечно-сосудистой системе существенно (однако не полностью) блокируется. Из-за нехватки эндогенного сероводорода артериальная гипертензия у таких животных фиксировалась в возрасте 8 недель, но это могло быть успешно предотвращено инъекцией экзогенного H_2S . Еще одним важным результатом этого исследования было то, что развитие гипертензии у нокаутированных по CSE мышей было обусловлено тяжелым нарушением эндотелий-зависимой вазодилатации мелких резистивных артерий. Сероводород действует как на эндотелиоциты, так и на гладкие миоциты сосудистой стенки, вызывая вазорелаксацию, у нокаутированных по CSE мышей этот процесс нарушается из-за нехватки CSE [46].

Таким образом, H_2S действует как эндогенный модулятор сократительной активности сосудистой стенки. В отличие от вазорелаксации, вызываемой оксидом азота и монооксидом углерода, вазодилатация, обусловленная влиянием сероводорода, реализуется без участия цГМФ-зависимых сигнальных путей. В то же время подобно NO CO, H_2S способен ингибировать пролиферацию гладких миоцитов и ускорять апоптоз *in vitro*, показано, что этот эффект опосредуется активацией MAP-киназы и каспазы 3 [47]. Поэтому H_2S – это не только вазодилататор, но еще и важный регулятор клеточного роста, способный подавлять структурное ремоделирование сосудистых тканей [12].

Оксид азота рассматривается как эндотелиальный релаксирующий фактор (EDRF), однако во многих сосудах сосудорасширяющий эффект лишь частично снижается в присутствии ингибиторов NOS и в случае нокаута по eNOS. Активность EDRF, вызванная действием NO, наиболее выражена в крупных сосудах, таких как аорта, в то время как в резистивных сосудах, которые непосредственно регулируют давление крови, этот эффект NO не так очевиден. Было высказано предположение, что NO действует в качестве EDRF в

крупных артериях, а H_2S играет роль EDRF в мелких резистивных артериях [48].

Считается, что H_2S вместе с NO и есть EDRF, который вызывает гиперполяризацию мембранного потенциала посредством активации АТФ-зависимых калиевых каналов [49].

Исходя их представлений о том, физиологический эффект H_2S опосредуется сульфгидратацией и активацией K_{ATP} -каналов, была высказана гипотеза, что H_2S и есть основной, если не преобладающий медиатор активности EDRF. Экспериментально подтверждено, что значительная (если не почти вся) активность EDRF обусловлена независимой от цГМФ гиперполяризацией кровеносных сосудов, что указывает на то, что EDRF главным образом зависит от эндотелиального гиперполяризующего фактора (EDHF), активность которого в значительной степени ассоциирована с H_2S [50].

Установлено, что эндогенный H_2S демонстрирует бифазный эффект на сосудистый тонус: при высоких концентрациях NaHS ($> 400 \mu M$) проявляются сосудорасширяющие свойства, а при низких концентрациях он действует как вазоконстриктор; в качестве возможного механизма констрикторного эффекта предложено ингибирование eNOS. Однако было показано, что бифазный эффект является результатом высокого напряжения кислорода, поскольку в области физиологических значений напряжения O_2 NaHS вызывает вазодилатацию, [51]. Это позволяет предположить, что ответственными за констрикторный эффект могут быть продукты окисления H_2S [52]. Высказано предположение, что концентрация H_2S в тканях определяет направленность его влияния на сосудистый тонус.

Исходя из наблюдений по снижению констрикции аортальных колец, вызванной NaHS (10–100 мМ), при денудации эндотелия, был сделан вывод о том, что констрикторный эффект H_2S на гладкомышечный слой сосудистой стенки, возможно опосредуется продукцией эндотелиальных констрикторов, таких как эндотелин, или ингибированием эндотелиальных вазодилататоров таких как NO

[53]. Применение NaHS в тех же условиях, но в концентрациях выше 100 мМ приводило к вазодилатации.

Сероводород и атеросклероз

Атеросклероз – сложный многофакторный процесс, который наряду с другими нарушениями включает в себя эндотелиальную дисфункцию и сосудистое воспаление. Многочисленными исследованиями доказана значительная роль H_2S в патогенезе атеросклероза, в его развитии и уменьшении последствий ишемического ремоделирования сосудов и повреждения тканей при ишемии/реперфузии [54, 55].

Экспериментальными исследованиями показано, что H_2S эндогенно продуцируется макрофагами при участии CSE и этот процесс стимулируется воспалительными липополисахаридами. Более того, показано, что NaHS ингибирует образование пенистых клеток проатерогенными продуктами окисления липопротеидов низкой плотности [56].

Нокаутирование по CSE или CBS, приводит к стойкому эндогенному дефициту H_2S и ускоряет развитие атеросклероза. В исследованиях *in vivo* подтверждена важная роль эндогенного H_2S в профилактике атеросклероза: было показано, что у мышей с ApoE^{-/-}CSE^{-/-} и ApoE^{-/-}CBS^{-/-} ранние стадии развития атеросклероза отмечаются даже без диетических предпосылок [57].

Гомеостаз и нормальное функционирование сосудистой системы во многом зависят от характера кровотока. Вазодилатация, ремоделирование сосудов и склонность к формированию атеросклеротических бляшек регулируются пристеночным напряжением сдвига. Нарушение кровотока в точках ветвления, изгибах и бифуркациях сосудов стимулирует атерочувствительный эндотелиальный фенотип со сниженной выработкой NO, усиленным оксидантным стрессом и повышенной экспрессией провоспалительных генов.

Установлено, что CSE принадлежит важная роль в процессе ремоделирования сосудов под влиянием условий кровотока. Нарушения кровотока в сосудах стимулирует экспрессию CSE и продукцию соединений серы. Повышенная

экспрессия CSE коррелирует с миграцией макрофагов к такой зоне, что, возможно, реализуется с участием ядерного фактора NF-κB. У нокаутированных по CSE мышей отмечены комплексные изменения в ремоделировании сосудов при нарушенном кровотоке, включая уменьшение медиального утолщения и невозможность сужения просвета [58].

Недавними исследованиями показано, что в нативных эндотелиальных клетках эндогенный H₂S генерируется преимущественно при участии CSE, экспрессия и активность этого энзима находится под регулирующим влиянием напряжения сдвига и воспаления [59]. Авторы считают, что модель атерогенеза, полученная для мышей, может найти подтверждение и для человека в плане тесной взаимосвязи между инактивацией CSE и ускорением *прогрессирования* заболевания. Была выявлена обратная корреляция между уровнем циркулирующего L-цистатинина, содержанием H₂S и функциями эндотелия как у мышей, так и у человека, что свидетельствует о потенциальной возможности использования показателей уровня L-цистатинина в качестве биомаркера сосудистой патологии. Кроме того, было показано, что *in situ* и *in vitro* экспрессия CSE зависит от сдвигового напряжения крови, и в местах нарушений кровотока экспрессия этого энзима повышена. Такие условия кровотока благоприятны для формирования атеросклеротических бляшек, поэтому повышенная экспрессия CSE в этих зонах имеет профилактическое значение [59].

Экспериментально подтверждено также, что экзогенный H₂S снижает экспрессию гена остеопонтина, тем самым способствуя снижению кальцификации сосудов, которая имеет место не только при атеросклерозе, но и при многих других патологиях: сахарном диабете, гипертензии, хронической почечной недостаточности, артериальном стенозе и возрастных изменениях [60].

Сероводород и система крови

Роль сероводорода в процессе эритропоэза и при кровопотере

Установлено, что оба продуцирующих H_2S энзима (CBS и CSE) присутствуют в крови в активной форме. Эндогенным источником сероводорода выступают эндотелиальные клетки, секретирующие оба этих энзима [61]. Еще одним источником сероводорода в крови являются эритроциты, которые способны продуцировать его не энзиматическим путем из элементарной серы и неорганических полисульфидов. Этот способ производства H_2S стимулируется в условиях гипергликемии и при повышенном оксидативном стрессе [16]. Необходимые для этого процесса количества восстановимой серы, равно как и других важных компонентов, всегда присутствуют в крови в условиях *in vivo*. Доказано присутствие серы в миллимолярных концентрациях в циркулирующей крови у человека и мыши [25]. Помимо неэнзиматического способа синтеза сероводорода в эритроцитах выявлены и другие пути продукции этого газотрансмиттера – так в эритроцитах крысы ключевым энзимом продукции H_2S выступает 3-меркаптопируват сульфуртрансфераза (MPST), доля H_2S , продуцируемого при участии L-цистеина значительно ниже [62].

В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что применение H_2S оказывает положительное влияние на продукцию эритропоэтина почками при гипоксии, но не при нормоксии. По всей видимости H_2S оказывает значительное влияние на эритрогенез и продукцию эритропоэтина почками. Возможно, H_2S по-разному взаимодействует с HIF-1 α и HIF-2 α , регулируя экспрессию соответствующих генов разными способами.

В модельных экспериментах на мышах *in vivo* было продемонстрировано, что H_2S оказывает значимое влияние на продукцию эритропоэтина почками. В этих опытах была подтверждена важная роль H_2S как сенсора кислорода в процессе эритропоэза и вовлеченность сигнальных путей с участием HIF в регуляции продукции эритропоэтина. При нокауте одного из трех ключевых энзимов, обеспечивающих продукцию H_2S , отмечено снижение уровня гемоглобина, эритропоэтина, CBS и NF κ B-p65 в условиях гипоксии в

сравнении с мышами дикого типа. Этот эффект был обратимым и нивелировался введением экзогенного H_2S [63].

Клинические исследования продемонстрировали, что у пациентов с хронической почечной недостаточностью (ХПН) и анемией содержание тиосульфата в моче было значительно ниже, чем у пациентов с ХПН без анемии, что косвенно подтвердило роль H_2S в поддержании нормального числа эритроцитов [63].

Результаты исследований роли сероводорода при кровопотерях достаточно противоречивы. Имеются экспериментальные свидетельства того, что H_2S способен обратимо снижать метаболические потребности тканей при массивной кровопотере, сопровождающейся недостаточным кислородным обеспечением. На модели грызунов с контролируемой потерей крови (до 60% от общего объема крови) показано, что 24-часовая выживаемость животных после кровопотери не превышала 23%, но ее удалось увеличить до 75% при введении экзогенного сероводорода (при ингаляции газообразного H_2S или при внутривенном введении NaHS в тех же экспериментальных условиях. Выжившие после применения сероводорода животные демонстрировали нормальное поведение и анализ их дыхательной функции подтвердил стабильный обмен веществ как в ходе кровопотери, так и после нее [64].

В другом исследовании наоборот было показано, что у крыс с геморрагическим шоком частота сердечных сокращений и артериальное давление восстанавливались быстрее, а повреждения тканей минимизировались в присутствии блокатора синтеза сероводорода PPG, подчеркивая тем самым негативную роль H_2S в этом процессе [65].

Сероводород в системе гемостаза

Данные о влиянии сероводорода на функции тромбоцитов немногочисленны. В исследовании Zagli et al. с использованием супрафизиологических концентраций H_2S было показана возможность ингибирования агрегации тромбоцитов в таких условиях [66]. В ряде экспериментальных исследований

показано, что H_2S обладает антитромботическим эффектом, ингибируя различные стадии процесса активации тромбоцитов (адгезию, секрецию и агрегацию) и процесс формирования тромба [67]. Другие исследователи установили, что высокие концентрации H_2S оказывают слабый ингибирующий эффект на агрегацию тромбоцитов человека и незначительное влияние на их адгезию [68].

Агрегация тромбоцитов, стимулированная разными индукторами (АДФ, арахидоновой кислотой, коллагеном, адреналином и тромбином) дозозависимо снижалась в присутствии $NaHS$ [67]. Более того, было показано, что адгезивные свойства фибриногена и коллагена модифицируются под действием H_2S , и такая модификация препятствует адгезии тромбоцитов [68].

В исследовании Morel et al. [69] продемонстрировано ингибирование продукции O_2 тромбоцитами *in vitro* под действием $NaHS$, наиболее выраженный ингибирующий эффект $NaHS$ зарегистрирован в случае тромбин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Механизмы, посредством которых H_2S модифицирует функциональные свойства тромбоцитов до сих пор окончательно не установлены. Было установлено, что этот ингибирующий эффект сероводорода не зависит ни от синтеза NO , ни от вовлеченности АТФ-зависимых калиевых каналов, ни от активации циклических нуклеотидов (цАМФ и/или цГМФ) [66]. Было выдвинуто предположение, что изменение функциональных свойств тромбоцитов может осуществляться посредством тиол-дисульфидных реакций [69], и альтернативный механизм влияния H_2S на свойства тромбоцитов может быть связан с наличием тиоловых групп.

Недавними исследованиями показано, что донор H_2S GYY4137 стимулирует процесс сульфгидратации протеинов тромбоцитов, дозозависимо ингибирует экспрессию молекул адгезии и снижает проявление морфологических признаков активации тромбоцитов.

Сероводород способен не только оказывать влияние на функциональные свойства эритроцитов, его действие на систему гемостаза можно назвать комплексным, так как он может

модифицировать основные белки системы гемостаза (фибриноген, тромбин и плазминоген), оказывая существенное влияние на процессы гемокоагуляции и фибринолиза [69].

В модельных опытах на мышах донор сероводорода GYY4137 значительно увеличивал время образования веноулярного тромба, из чего был сделан вывод об антитромботических свойствах сероводорода и выдвинуто предположение о способности GYY4137 регулировать процесс образования тромба, оказывая влияние на этапы активации тромбоцитов, их адгезии и агрегации [70].

В продолжение этих исследований по оценке влияния GYY4137 на стабильность тромбов и микрососудистый тромболизис было показано значительное ускорение артериолярного и веноулярного тромболизиса под действием GYY4137 в сравнении с контролем (DMSO), а также установлено, что GYY4137 снижает стабильность тромба, ингибируя тромбоцитарно-лейкоцитарную агрегацию и способствует эндогенному тромболизису у мышей [71].

В присутствии NaHS (0.01–100 μM) увеличивалось время свертывания крови, снижалась скорость полимеризации фибрина и стимулировался фибринолиз в человеческой плазме. Эти результаты свидетельствуют о потенциальных антикоагулянтных свойствах H_2S в условиях *in vitro* и предполагают возможность применения H_2S как полноценного антикоагулянта с целью профилактики тромбозов в случае патологии с повышенной прокоагулянтной активностью плазмы. Тем не менее детальные механизмы влияния сероводорода на процессы гемостаза и тромбоза требуют дальнейшего изучения. Одним из возможных механизмов, может быть, реакция сульфидратации плазменных белков под действием H_2S .

Сероводород и микрореологические свойства эритроцитов

Реологические свойства крови становятся определяющим фактором для кровотока и кислородного снабжения тканей на уровне микроциркуляции. Эритроциты, доставляя кислород ко

всем тканевым микрокрайонам, вынуждены проходить через узкие капилляры, диаметр которых сопоставим или даже меньше размеров красных клеток крови, подвергаясь деформации. Поэтому в условиях нормы эритроциты обладают хорошей деформируемостью и это микрореологическое свойство вносит существенный вклад в реализацию кислородтранспортной функции крови и обеспечение адекватного микрокровотока [72].

Наряду с деформируемостью еще одна клеточная характеристика определяет текучие свойства крови и эффективность ее движения по микрососудам – это агрегируемость – способность красных клеток крови обратимо объединяться в агрегаты по типу монетных столбиков при низких скоростях сдвига или при стазе. В норме такие агрегаты легко распадаются на одиночные клетки в условиях высокосдвигового потока, сохраняются они лишь при замедленном токе крови или ее остановке, поэтому размер таких агрегатов обратно пропорционален величине сдвигового напряжения. Поэтому способность эритроцитов к объединению в агрегаты оказывает заметное влияние на текучесть крови *in vivo*, создавая опасность нарушений циркуляции крови в микрососудах при снижении скоростей сдвига [73].

Неблагоприятные изменения микрореологических свойств эритроцитов (рост агрегируемости и снижение деформируемости) в условиях патологии могут способствовать росту вязкости крови и ухудшению кислородного питания тканей, что, в свою очередь, нарушает кровоток и способствует прогрессированию заболевания [73].

Поскольку эритроциты активно вовлечены в процессы метаболизма и депонирования сероводорода, логично предположить, что изменение содержания этого газомедиатора может оказать влияние на их функциональные свойства. Информация о возможном влиянии молекул газомедиаторов на микрореологические характеристики красных клеток крови в опубликованных данных достаточно скудная. Если результаты исследований по оценке эффекта NO на реологию крови и микрореологические свойства эритроцитов в определенной

степени представлены в литературе [74, 75, 76], то исследования влияния сероводорода на эти свойства клеток крови и вязкость крови предприняты недавно и крайне немногочисленны.

Результаты изучения влияния газотрансмиттеров на микрореологию эритроцитов *in vitro* представлены в работах Муравьева А.В. и соавт. (2020, 2021), в которых показано, что инкубация эритроцитов с донором сероводорода NaHS сопровождалась статистически значимым приростом их деформируемости и снижением агрегации [77]. Зафиксирован дозозависимый эффект доноров NO и H₂S (нитропруссид натрия и NaHS) на микрореологические свойства разных возрастных фракций эритроцитов, выявлено снижение агрегируемости эритроцитов в присутствии газомедиаторов, наиболее выраженное для «старых» клеток [78]. В дальнейшем изучение возможных механизмов влияния сероводорода на агрегируемость и деформируемость эритроцитов позволило прийти к выводу о существовании цГМФ-независимого прямого действия газотрансмиттеров на вязкоэластичные свойства мембраны красных клеток крови [79] и взаимовлиянии NO и H₂S при их совместном действии [80].

При изучении эффекта *in vitro* экзогенного сероводорода на микрореологические характеристики эритроцитов в норме и при сахарном диабете 2-го типа был продемонстрирован положительный эффект этого газомедиатора, более выраженный в норме [81].

Механизмы реализации биологических эффектов сероводорода

Клеточные мишени сероводорода

Регуляторная функция H₂S реализуется через различные молекулярные мишени, такие как разнообразные ионные каналы и сигнальные белки. Один из основных механизмов действия H₂S – модификация протеинов. H₂S является сильным восстановителем и может восстанавливать двойные дисульфидные связи. Другой механизм – это присоединение дополнительного атома серы к тиоловой группе [25]. Химическая модификация белков приводит к изменению их

конформации и функциональной активности. В клетке мишенями действия H_2S могут быть ионные каналы, мембранные и внутриклеточные ферменты, различные протеины и т.д. [82]. Так же как NO , H_2S с высокой аффинностью связывается с гемом, однако в физиологических условиях стимуляции циклической гуанилатциклазы не происходит [5], ингибиторы гуанилатциклазы не влияют на способность H_2S расслаблять кровеносные сосуды, поэтому действие H_2S не зависит от данного фермента [20].

Газомедиаторы перевернули привычные концепции о межклеточных взаимодействиях. Например, газообразное вещество не может храниться в везикулярных структурах и поэтому должно вновь синтезироваться по мере потребности в нем. Из этого следует, что вместо регуляции экзоцитоза как основного способа доставки активного вещества, объектом тонких регуляторных механизмов становятся ферменты его биосинтеза. Вместо связывания с мембранными рецепторами клеток, газомедиаторы диффундируют внутрь близлежащих клеток для взаимодействия со своими мишенями.

Два газомедиатора (NO и H_2S) обладают высокой химической реакционной способностью. Поэтому при случайном проникновении в клетку они должны быть перехвачены и инактивированы такими соединениями как глутатион, которые присутствуют в клетке в достаточных количествах. Обычно NO достигает своей мишени посредством связывания фермента его биосинтеза (той или иной формы NO -синтазы (NOS)) с белком-мишенью. Подобный регуляторный механизм по всей видимости существует и для H_2S .

Возможно самой уникальной особенностью газомедиаторов можно считать молекулярные механизмы их сигнализации. Классическая молекула посредника (мессенджера) действует через амплифицирующий сигнал каскад. Например, гормоны или нейромедиаторы действуют на G-белки, посредством активации сопряженных с ними рецепторов, изменяя свойства G-белков, которые, в свою очередь, влияют на ферменты, продуцирующие циклические нуклеотиды или инозитол 1,4,5-трифосфат (IP_3). Циклические

нуклеотиды оказывают влияние на различные протеинкиназы, IP3 способствует высвобождению внутриклеточного кальция, который, в свою очередь, взаимодействует с различными внутриклеточными белками. Пептиды и белки, которые действуют через тирозин-киназные рецепторы, реализуют свой эффект через определенную достаточно длинную молекулярную цепочку. И напротив, газомедиаторы химически модифицируют внутриклеточные протеины, очень оперативно влияя на клеточный метаболизм [83].

Было показано, что H_2S реализует свои эффекты посредством механизмов, сходных с нитрозилированием, формируя ковалентные связи с SH-группой цистеинов, этот процесс был назван сульфгидратацией. Сульфгидратация гораздо более распространена, чем нитрозилирование. В то время как нитрозилируются обычно от 1 до 5% большинства протеинов, 10-25% эндогенной глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, β -тубулина и актина в основном сульфгидратируются. Сульфгидратация может влиять на функции белков иначе, чем нитрозилирование. При нитрозилировании как бы прикрываются активные SH группы цистеинов, что обычно ведет к инактивации белков, хотя иногда фиксируется и активирующий эффект. При сульфгидратации, напротив, SH-группа превращается в SSH, которая химически более реакционноспособна и готова легче вступать во взаимодействие с клеточным окружением. Например, сульфгидратация глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы повышает ее активность на 700% [84].

Полисульфиды

В последнее время высказывается мнение, что представление о том, что исключительно молекула сероводорода как таковая способна одна реализовывать все описываемые в литературе сигнальные и биологические эффекты, по всей видимости, можно считать слишком упрощенным [85]. Хотя H_2S – это коротко живущая молекула, многочисленные исследования демонстрируют ее пролонгированный эффект в организме млекопитающих.

Поэтому была выдвинута гипотеза о физиологическом значении метаболитов сероводорода таких как персульфиды, полисульфиды и другие активные формы серы (RSS). Кроме экзогенного образования неорганических полисульфидов в растворе NaHS, было зафиксировано также и существование эндогенных неорганических полисульфидов [86].

Концепция газомедиаторов рассматривает конкретные свойства этих сигнальных молекул газов, в том числе их хорошую проницаемость через клеточные мембраны, взаимодействие с гемопroteинами и их способность к регуляции посредством включения определенных сигнальных механизмов. Однако эта концепция не учитывает тех фактов, что продукты метаболизма этих газов (например, продукты окисления) зачастую являются медиаторами многих биологических функций в большей степени, чем молекулы исходных газов сами по себе. Окисление H_2S в реальных биологических условиях – это неизбежный процесс, в результате которого образуются полисульфиды и персульфиды, которые проявляют такие же эффекты, как и H_2S [86].

В исследовании [55] было продемонстрировано, что наряду с H_2S , пер- и полисульфиды в равной степени способны регулировать различные эндотелиальные функции. На различных моделях сердечно-сосудистых заболеваний с повреждением тканей была зафиксирована кардиопротекторная роль сульфида и полисульфида [87].

Взаимодействие газомедиаторов

Известные на сегодняшний день газомедиаторы H_2S , NO, and CO обладают сходными химическими и биологическими свойствами, общими молекулярными мишенями и сходными клеточными эффектами. Они дополняют друг друга в регуляции биологических функций. Например, на тканевом уровне все три газа способны вызывать вазодилатацию, на клеточном уровне все могут ингибировать окислительное фосфорилирование, H_2S и NO действуют на цитохромоксидазу. Они могут также конкурировать друг с другом, все они связываются с гемоглобином [25].

Эффекты газомедиаторов могут быть опосредованы их взаимодействием друг с другом, что получило подтверждение в последние годы. Взаимодействие осуществляется как на уровне регуляции ферментов синтеза, так и мишеней их действия. Сероводород, например, ингибирует активность ферментов, синтезирующих NO, - эндотелиальный фактор расслабления стенок аорты и других крупных сосудов, а донор NO, нитропруссид натрия, усиливает экспрессию цистатионинн-γ-лиазы и цистатионинн-β-синтазы [88].

Если вазодилатационный эффект NO реализуется в аорте, то расслабление брыжеечных артерий, относящихся к резистивным сосудам и являющихся более значимыми для регулирования периферического давления крови, в основном связано с H₂S. Видимо, от типа сосудов и вида животного зависит, какой именно расслабляющий фактор будет работать. Кроме того, механизмы действия H₂S и NO в сосудах различны. Эффекты NO опосредуются через растворимую форму гуанилатциклазы и модуляцию K_{Ca}-каналов, а H₂S – через гиперполяризацию, которая обеспечивается активностью K_{ATP}-каналов. NO, CO и H₂S могут активировать K_{Ca}-каналы высокой проводимости посредством разных химических модификаций канального белка. NO модифицирует сульфгидрильные группы, CO – остатки гистидина, а H₂S восстанавливает дисульфидные связи [82].

Известен факт, что ингибирование любого из H₂S-продуцирующих ферментов (CSE, CBS или 3-MST), уменьшает фосфорилирование eNOS по Ser1177 в ответ на напряжение сдвига, что свидетельствует о фундаментальной роли метаболизма H₂S в активации эндотелия, вызванной сдвигом [89].

Данные о взаимовлиянии продукции и высвобождения H₂S и NO достаточно противоречивы. Наряду с данными, свидетельствующими, что H₂S стимулирует выработку NO эндотелием [90], в других исследованиях были высказаны суждения о том, что H₂S ингибирует активность eNOS и блокирует эффект SNP (нитропруссид натрия) [20]. Было высказано предположение о том, что H₂S способен

модифицировать активность фосфодиэстераз, тем самым оказывая влияние на уровень циклических нуклеотидов [91]. Было показано, что NO обладает способностью повышать экспрессию и активность CSE и связываться с циркулирующей в крови CSE, а возможно и с CBS [20]. В то же время L-NAME может снижать содержание H_2S , уменьшая активацию и экспрессию CSE [24].

Кроме влияния на ферменты, было установлено, что NO и H_2S способны образовывать нитрозотиольные соединения, обладающие определенной физиологической ролью, S-нитрозосоединения, ингибировать синтез тромбоксана TxA_2 непосредственно приводя к цГМФ-независимому ингибированию активации тромбоцитов [92]. Также H_2S может восстанавливать NO до нитроксила (HNO), который предположительно может независимо действовать на цГМФ и цАМФ, возможно посредством активации SERCA (Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума); однако в настоящее время не представляется возможным измерить содержание HNO , а, следовательно, и его оценить его роль [93].

Повышенное содержание свободного сероводорода в плазме крови может быть компенсаторным ответом на эндотелиальную дисфункцию и дисрегуляцию биодоступности NO. Недавними исследованиями было показано, что H_2S может оказывать влияние на экспрессию и функциональную активность eNOS, способствуя восстановлению нитрит-аниона до NO, выступая в качестве альтернативного пути регуляции биодоступности NO [36].

NO может оказывать влияние на уровень H_2S в тканях сосудов посредством двух механизмов. Zhao et al. обнаружили, что NO повышает активность CSE в сосудистых тканях. Они инкубировали гомогенат тканей аорты с донором NO в течение 90 минут, что привело к значительному дозозависимому увеличению продукции H_2S . Возможно, что NO повышает активность цГМФ-зависимой протеинкиназы, которая в свою очередь стимулирует CSE. Кроме того, NO может непосредственно воздействовать на белок CSE. Белок CSE млекопитающих состоит из 12 цистеинов, специфические

остатки цистеина, которые могут взаимодействовать с NO пока не установлены. Однако вполне возможно, что имеет место нитрозилирование определенных свободных -SH групп CSE в присутствии NO [20].

Вторым механизмом NO-индуцированной продукции H₂S является регуляция экспрессии CSE. Инкубация культуры сосудистых гладкомышечных клеток с донором NO в течение 6 часов существенно повышает уровень экспрессии CSE [20]. Другими исследованиями также было показано, что донор NO S-нитрозо-N-ацетилпеницилламин (SNAP) увеличивает экспрессию CSE, а другой донор NO (SNP) повышает активность CSE [24].

Взаимодействие H₂S и NO играет важную роль в кардиопротекции и регуляции сосудистого тонуса. H₂S, полисульфиды и их взаимодействие с NO опосредуют различные физиологические и патофизиологические процессы [94]. Еще меньше известно о взаимодействии CO и H₂S; однако было показано, что CO способен связываться и с CSE, и с CBS, блокируя их активность, причем аффинность связывания CO с CBS выше, чем у NO [95]. В целом можно заключить, что существующие на сегодняшний день представления о взаимодействии газомедиаторов свидетельствуют о возможном синергетическом эффекте, когда комбинация газовых молекул в низкой концентрации обеспечивает больший суммарный эффект, чем сумма эффектов каждого из газов в отдельности [96].

Бифазный характер эффекта сероводорода

Сероводород участвует в многочисленных физиологических и патофизиологических процессах в сердечно-сосудистой системе. Однако анализ опубликованных данных позволяет заключить, что результаты экспериментальных исследований эффекта сероводорода зачастую противоречивы. Это может быть объяснено различными условиями проведения эксперимента и разными концентрациями сероводорода или его доноров, применяемыми для оценки эффекта этого газомедиатора. Недавно было установлено, что дозозависимый

ответ на воздействие разных концентраций сероводорода описывается куполообразной (bell-shaped) кривой, свидетельствуя о бифазном характере эффекта. Это означает, что эффект сероводорода при низких и более высоких концентрациях может отличаться не только по степени выраженности, но и по направленности и ответные проявления даже могут оказаться противоположными [97].

Одним из наиболее убедительных примеров такой бифазности может служить влияние сероводорода на функции митохондрии. Разнообразие эффектов H_2S в отношении митохондрий хорошо известно, один их механизмов влияния сероводорода обусловлен прямым переходом электронов в цепь переноса электронов митохондрии, другой механизм поддержания митохондриальной функции состоит в ингибировании цАМФ-фосфодиэстеразы.

H_2S также может проявлять антиоксидантный эффект и способствовать восстановлению митохондриальных ДНК, непосредственно воздействуя на восстанавливающие ДНК ферменты. Активность митохондриальной АТФ-синтазы может прямо стимулироваться сероводородом посредством сульфгидратации. В то же время при высоких концентрациях H_2S блокирует процесс клеточного дыхания, ингибируя цитохром с-оксидазу, которая является ключевым элементом процесса окислительного фосфорилирования. Ингибирование этого фермента нарушает транспорт электронов в митохондрии и продукцию АТФ [97].

Таким образом, сероводород обладает широкой палитрой воздействий на все элементы сердечно-сосудистой системы – на работу сердца, на функционирование сосудистой системы и состояние системы крови. Несмотря на то, что эффекты сероводорода в сердечно-сосудистой системе еще недостаточно изучены и механизмы его воздействия тоже пока не совсем ясны, опубликованные данные позволяют заключить, что эта газовая молекула обладает определенным диагностическим и терапевтическим потенциалом.

Бблиографический список

1. Giuffrè A., Vicente J.B. Hydrogen Sulfide Biochemistry and Interplay with Other Gaseous Mediators in Mammalian Physiology // *Oxid Med Cell Longev.* – 2018. – 27;2018:6290931. doi: 10.1155/2018/6290931.
2. Zhao Y., Biggs T.D., Xian M. Hydrogen Sulfide (H₂S) Releasing Agents: Chemistry and Biological Applications // *Chem Commun (Camb).* - 2014. -Vol. 50, № 80. - P. 11788–11805.
3. Guo W., Cheng Z., Zhu Y. Hydrogen sulfide and translational medicine // *Acta Pharmacol Sin.* – 2013. – Vol. 34, № 10. – P.1284-1291.
4. Wagner F., Asfar P., Calzia E et al. Bench-to-bedside review: Hydrogen sulfide – the third gaseous transmitter: applications for critical care // *Crit Care.* - 2009. – Vol.13, № 3. – P. 213-219.
5. Abe K., Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator // *J Neurosci* - 1996. – Vol. 16. – P.1066–1071.
6. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter? // *FASEB J.* – 2002. – Vol. 16, № 13. – P.1792-1798.
7. Pan L., Qin M., Liu X. et al The Role of Hydrogen Sulfide on Cardiovascular Homeostasis: An Overview with Update on Immunomodulation // *Front. Pharmacol* -2017. – № 8. - P. 686.
8. Liu Y.H., Lu M., Hu L.F. et al. Hydrogen sulfide in the mammalian cardiovascular system // *Antioxid. Redox Signal.* – 2012. - № 17. – P.141–185.
9. Powell C.R., Dillon K.M., Matson J.B. A Review of Hydrogen Sulfide (H₂S) Donors: Chemistry and Potential Therapeutic Applications // *Biochem Pharmacol* – 2018. - № 149. – P. 110–123.
10. Yang J., Minkler P., Grove D. et al. Non-enzymatic hydrogen sulfide production from cysteine in blood is catalyzed by iron and vitamin B6 // *Commun Biol.* – 2019. - 21;2:194. doi: 10.1038/s42003-019-0431-5.

11. Lowicka E., Beltowski J. Hydrogen sulfide (H_2S) – the third gas of interest for pharmacologists // *Pharmacol Rep.* - 2007. - № 59. – P.4-24.

12. Chen C.Q., Xin H., Zhu Y.Z. Hydrogen sulfide: third gaseous transmitter, but with great pharmacological potential // *Acta Pharmacol Sin.* – 2007. - Vol. 28, № 11. – P.1709-1716.

13. Papapetropoulos A., Wallace J.L., Wang R. From primordial gas to the medicine cabinet // *Br J Pharmacol.* – 2020. - № 177. – P. 715–719.

14. Mani S., Li H., Untereiner A. et al. Decreased endogenous production of hydrogen sulfide accelerates atherosclerosis // *Circulation* – 2013. - № 127. – P. 2523–2534.

15. Wallace J.L., Wang R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2015. - №14. – P. 329–345.

16. Benavides G.A., Squadrito G.L., Mills R.W. et al, Hydrogen sulfide mediates the vasoactivity of garlic // *Proc Natl Acad Sci USA* – 2007. - № 104. – P. 17977–17982.

17. Elsey D.J., Fowkes R.C., Baxter GF. Regulation of cardiovascular cell function by hydrogen sulfide (H_2S) // *Cell Biochem Funct* – 2010. – Vol. 28, № 2ю – P.95-106.

18. Pei J., Wang F., Pei S. et al., Hydrogen Sulfide Promotes Cardiomyocyte Proliferation and Heart Regeneration via ROS Scavenging // *Oxid Med Cell Longev* - 2020, 21;2020:1412696. doi: 10.1155/2020/1412696.

19. Gadalla M.M., Snyder S.H. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter // *J Neurochem* – 2010. - № 113. – P.14–26.

20. Rushing A.M., Donnarumma E., Polhemus D.J. et al. Effects of a novel hydrogen sulfide prodrug in a porcine model of acute limb ischemia // *J Vasc Surg* – 2019. - № 69. – P.1924–1935.

21. Meng G., Wang J., Xiao Y. et al. GYY4137 protects against myocardial ischemia and reperfusion injury by attenuating oxidative stress and apoptosis in rats // *J Biomed Res.* – 2015. - № 29. – P. 203–213.

22. Xu M., Wu Y.M., Li Q. et al. Electrophysiological effects of hydrogen sulfide on pacemaker cells in sinoatrial nodes of rabbits // Sheng Li Xue Bao – 2008. – Vol. 60, № 2. – P.175-180.

23. Zhang Z., Huang H., Liu P. et al. Hydrogen sulfide contributes to cardioprotection during ischemia-reperfusion injury by opening K_{ATP} channels // Can J Physiol Pharmacol – 2007. - № 85. – P. 1248–1253.

24. Zhao W., Wang R. H_2S induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms // Am J Physiol Heart Circ Physiol – 2002. - № 283. – P. 474–480.

25. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed // Physiol Rev – 2012. - № 92. - P.791–896.

26. Kohno M., Tanaka E., Nakamura T. et al. Influence of short-term inhalation of hydrogen sulfide in rats // Eisei Kagaku Jpn J Toxicol Environ Health – 1991. – № 37. - P. 103–106.

27. Higuchi Y. Behavioral studies on toxicity of hydrogen sulfide by means of conditioned avoidance responses in rats // Nippon Yakurigaku Zasshi – 1977. - № 73. – P. 307–319.

28. Sivarajah A., Collino M., Yasin M. et al. Antiapoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R // Shock – 2009. - № 31. – P. 267–274.

29. Ji Y., Pang QF., Xu G. et al. Exogenous hydrogen sulfide post-conditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury // Eur J Pharmacol – 2008. - № 587. – P. 1–7.

30. Yong Q.C., Pan T.T., Hu L.F. et al. Negative regulation of beta-adrenergic function by hydrogen sulfide in the rat hearts // J Mol Cell Cardiol – 2008. - № 44. – P. 701–710.

31. Olson K.R., Dombkowski R.A., Russell M.J. et al. Hydrogen sulfide as an oxygen sensor/transducer in vertebrate hypoxic vasoconstriction and hypoxic vasodilation // J Exp Biol – 2006. - № 209. – P. 4011–23.

32. Semenza G.L. Hypoxia. Cross talk between oxygen sensing and the cell cycle machinery // Am J Physiol Cell Physiol – 2011. – Vol. 301, № 3. – P. C550–C552.

33. Wu B., Teng H., Yan, G. et al. Hydrogen sulfide inhibits the translational expression of hypoxia-inducible factor-1alpha // Br J Pharmacol – 2012. – Vol.167, № 7. – P.1492–1505.

34. Wu B., Teng H., Zhang L. et al. Interaction of Hydrogen Sulfide with Oxygen Sensing under Hypoxia // Oxid Med Cell Longev – 2015. - 2015:758678. Doi: 10.1155/2015/758678.

35. Papapetropoulos A., Pyriochou A., Altaany Z. et al. Hydrogen sulfide is an endogenous stimulator of angiogenesis // Proc Natl Acad Sci USA – 2009. - №106. – P. 21972–21977.

36. Coletta C., Papapetropoulos A., Erdelyi K. et al. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation // Proc Natl Acad Sci USA – 2012. - №109. – P. 9161–9166.

37. Yuan S., Shen X., Kevil C.G. Beyond a Gasotransmitter: Hydrogen Sulfide and Polysulfide in Cardiovascular Health and Immune Response //Antioxid Redox Signal - 2017. - № 27. – P. 634–653.

38. Wang M.J., Cai W.J., Li N. et al. The hydrogen sulfide donor NaHS promotes angiogenesis in a rat model of hind limb ischemia // Antioxid Redox Signal – 2010. - № 12. – P. 1065–1077.

39. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential // Nat Rev Drug Discov – 2007. - № 6. – P. 917–935.

40. Skovgaard N., Goulliaev A., Aalling M. et al. The Role of Endogenous H₂S in Cardiovascular Physiology // Curr Pharm Biotechnol – 2011. - № 12. – P. 1385–1393.

41. Wang R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine// Antioxid Redox Signal – 2010 - № 12. – P.1061–1064.

42. Martelli A., Testai L., Breschi M.C. Vasorelaxation by hydrogen sulphide involves activation of Kv7 potassium channels // Pharmacol Res – 2013. - № 70. - P.27-34.

43. Haick J., Byron K.L. Novel treatment strategies for smooth muscle disorders: Targeting Kv7 potassium channels/ / Pharmacol Ther – 2016. - №165. – P.14-25.

44. Yan H., Du J., Tang C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats // *Biochem Biophys Res Commun* -2004. - № 313. – P. 22–27.

45. Zhao X., Zhang L., Zhang C. Regulatory effect of hydrogen sulfide on vascular collagen content in spontaneously hypertensive rats // *Hypertens Res* – 2008. - № 31. – P. 1619 –1630.

46. Yang G., Wu L., Jiang B. et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: Hypertension in mice with deletion of cystathionine gamma-lyase // *Science* – 2008. - № 322. – P. 587–590.

47. Yang G., Sun X., Wang R. Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogenactivated protein kinases and caspase-3// *FASEB J* – 2004. - №18. – P.1782–1784.

48. Wang R. Physiological implications of hydrogen sulfide: a whiff exploration that blossomed // *Physiol Rev* – 2012. - № 92. – P.791–896.

49. Brandes R., Schmitz-Winnenthal F., Félétou M. et al. An endothelium-derived hyperpolarizing factor distinct from NO and prostacyclin is a major endothelium-dependent vasodilator in resistance vessels of wild-type and endothelial NO synthase knockout mice // *Proc Natl Acad Sci USA* – 2000. - № 97. – P. 9747–9752.

50. Vandiver M.S., Snyder S.H. Hydrogen Sulfide: A gasotransmitter of clinical relevance// *J Mol Med (Berl)* – 2012. – Vol. 90, № 3. – P. 255–263.

51. Koenitzer J.R., Isbell T.S., Patel H.D. et al. Hydrogen sulfide mediates vasoactivity in an O₂-dependent manner // *Am J Physiol Heart Circ Physiol* – 2007. - № 292. – P. H1953–H1960.

52. Yuan S., Shen X., Kevil C.G. Beyond a Gasotransmitter: Hydrogen Sulfide and Polysulfide in Cardiovascular Health and Immune Response // *Antioxid Redox Signal* - 2017. - № 27. – P. 634–653.

53. Ali M.Y., Ping C.Y., Mok Y.Y. et al. Regulation of vascular nitric oxide in vitro and in vivo; a new role for endogenous hydrogen sulfide? // *Br J Pharmacol* – 2006. – Vol. 149, № 6. – P. 625–634.

54. Wang Y., Zhao X., Jin H et al. Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice // *Arterioscler Thromb Vasc Biol* – 2009 - № 29. – P.173–179.

55. Bolton S.G., Cerda M.M., Gilbert A.K. et al. Effects of sulfane sulfur content in benzyl polysulfides on thiol-triggered H₂S release and cell proliferation// *Free Radic Biol Med* - 2019. - № 131. – P. 393–398.

56. Polhemus D.J., Lefer D.J. Emergence of Hydrogen Sulfide as an Endogenous Gaseous Signaling Molecule in Cardiovascular Disease// *Circ Res* – 2014.- Vol.114, № 4. – P.730–737.

57. Wang M., Tang W., Zhu Y.Z. An Update on AMPK in Hydrogen Sulfide Pharmacology // *Front Pharmacol* – 2017. - 8:810. doi.org/10.3389/fphar.2017.00810.

58. Yuan S., Yurdagul A., Peretik J.M. et al. Cystathionine γ -lyase modulates flow-dependent vascular remodeling // *Arterioscler Thromb Vasc Biol* – 2018. - № 38. – P. 2126–2136.

59. Bibli S.I., Hu J., Sigala F. et al. Cystathionine γ lyase sulfhydrates the RNA binding protein human antigen R to preserve endothelial cell function and delay atherogenesis // *Circulation* – 2019. - № 139. – P. 101–114.

60. Wu S.Y., Pan C.S., Geng B. et al. Hydrogen sulfide ameliorates vascular calcification induced by vitamin D3 plus nicotine in rats // *Acta Pharmacol Sin* – 2006. - № 27. – P. 299–306.

61. Bearden S., Beard R.S., Pfau J.C. Extracellular transsulfuration generates hydrogen sulfide from homocysteine and protects endothelium from redox stress// *Am J Physiol Heart Circ Physiol* – 2010. – Vol. 299, № 5. – P. H1568-76.

62. Zhao J., Fang L.P., Xu G. et al. Assay of endogenous hydrogen sulfide from erythrocytes // *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* – 2007. – Vol.18, № 5. – P. 449-52.

63. Leigh J., Juriasingani S., Akbari M. et al. Endogenous H₂S production deficiencies lead to impaired renal erythropoietin production// *Can Urol Assoc J* – 2019. – Vol. 13, № 7ю – P.E210-9.

64. Morrison M.L., Blackwood J.E., Lockett S.L. et al. Surviving blood loss using hydrogen sulfide // J Trauma – 2008. - № 65. – P.183–188.

65. Mok Y., Shirhan M., Cheong Y. et al. Role of hydrogen sulfide in haemorrhagic shock in the rat: protective effect of inhibitors of hydrogen sulfide biosynthesis // Br J Pharmacol – 2004. - № 143. – P. 881–889.

66. Zagli G., Patacchini R., Trevisani M. et al. Hydrogen sulfide inhibits human platelet aggregation // Eur J Pharmacol – 2007. – Vol. 559, № 1. – P. 65–68.

67. Olas B., Kontek B. The possible role of hydrogen sulfide as a modulator of hemostatic parameters of plasma // Chem Biol Interact – 2014. - 220:2014. doi: 10.1016/j.cbi.2014.06.00120–24.

68. Truss N.J., Warner T.D. Gasotransmitters and platelets // Pharmacol Ther – 2011. – Vol. 132, № 2. – P.196-203.

69. Morel A., Malinowska J., Olas B. Hydrogen sulfide changes adhesive properties of fibrinogen and collagen in vitro // Platelets – 2014. – Vol. 5, № 2. – P.147-9.

70. Grambow E., Mueller-Graf F., Delyagina E. et al. Effect of the hydrogen sulfide donor GYY4137 on platelet activation and microvascular thrombus formation in mice // Platelets - 2014. -Vol. 25, № 3. – P.166-74.

71. Grambow E., Leppin C., Leppin K. et al. The effects of hydrogen sulfide on platelet-leukocyte aggregation and microvascular thrombolysis// Platelets. – 2017. – Vol. 28, № 5. – P. 509-517.

72. Baskurt O.K., Meiselman H.J. Blood rheology and hemodynamics// Semin Thromb Hemost – 2003. – Vol. 29, № 5. – P. 435–450.

73. Baskurt O.K., Meiselman H.J. Erythrocyte aggregation: Basic aspects and clinical importance// Clin Hemorheol Microcirc – 2013. - Vol. 53, №2. – P. 23-37.

74. Ozüyan B., Grau M., Kelm M. et al. RBC NOS: regulatory mechanisms and therapeutic aspects// Trends Mol Med – 2008. – Vol. 14, № 7. – P. 314-22.

75. Baskurt O.K., Ulker P., Meiselman HJ. Nitric oxide, erythrocytes and exercise// Clin Hemorheol Microcirc – 2011. – Vol. 49, № (1-4). – P. 175-81.

76. Grau M., Pauly S., Ali J. et al. RBC-NOS-dependent S-nitrosylation of cytoskeletal proteins improves RBC deformability // PLoS One – 2013. – 8(2):e56759. Doi: 10.1371/journal.pone.0056759.

77. Муравьев А.В. Роль газовых медиаторов (CO, NO и H₂S) в регуляции кровообращения: анализ участия микрореологии клеток крови // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2021 – 20(1). – с. 91-99.

78. Muravyov A.V., Tikhomirova I.A., Avdonin P.V. et al. Cellular models of erythrocytes for studying the effect of gasotransmitters on their microrheology // Journal of Cellular Biotechnology – 2019. - № 5. – P. 3–10.

79. Muravyov A.V., Avdonin P.V., Tikhomirova I.A. et al. Effects of Gasotransmitters on Membrane Elasticity and Microrheology of Erythrocytes // Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology - 2019. - Vol. 13, № 3. – P. 225–232.

80. Muravyov A.V., Antonova N., Tikhomirova I.A. Red blood cell micromechanical responses to hydrogen sulfide and nitric oxide donors: Analysis of crosstalk of two gasotransmitters (H₂S and NO) // Series on Biomechanics – 2019. – Vol. 33, № 2.- P. 34 – 40.

81. Muravyov A.V., Tikhomirova I.A., Kislov N.V. et al. Effect of hydrogen sulfide gas transmitter on the microrheological properties of erythrocytes in healthy persons and patients with diabetes mellitus type 2 // Tromboz, Gemostaz I Reologia – 2020. - № 1. - P.31-36.

82. Ситдикова Г.Ф., Яковлев А.В., Зефилов А.Л. Газомедиаторы: от токсических эффектов к регуляции клеточных функций и использованию в клинике // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – т.13. – № 6. – с.185-200.

83. Mustafa A.K., Gadalla M.M., Snyder S.H. Signaling by Gasotransmitters// Sci. Signal. - 2009. – Vol. 2, № 68. – P. 1-8.

84. Vandiver M.S., Snyder S.H. Hydrogen Sulfide: A gasotransmitter of clinical relevance. *J Mol Med (Berl)*. 2012; 90(3): 255-263. Doi:10.1007/s00109-012-0873-4.

85. Kolluru G.K., Shen X., Kevil C.G. Reactive Sulfur Species: A New Redox Player in Cardiovascular Pathophysiology // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* – 2020. – Vol. 40, № 4. – P. 874-884.

86. Yuan S., Pardue S., Shen X. et al. Hydrogen sulfide metabolism regulates endothelial solute barrier function // *Redox Biol.* – 2016. - № 9. – P. 157-166.

87. Calvert J.W., Elston M., Nicholson C.K. et al. Genetic and pharmacologic hydrogen sulfide therapy attenuates ischemia-induced heart failure in mice // *Circulation.* – 2010. - № 122. – P. 11-19.

88. Shibuya N., Milkanai Y., Kimura Y. et al. Vascular endothelium expresses 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase and produces hydrogen sulfide // *J. Biochem. Adv. Access.* – 2009. - № 146. – P. 623-626.

89. Huang B., Chen C.T., Chen C.S. et al. Laminar shear flow increases hydrogen sulfide and activates a nitric oxide producing signaling cascade in endothelial cells // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2015. - № 464. – P.1254-1259.

90. Chatzianastasiou A., Bibli S.I., Andreadou I. et al. Cardioprotection by H₂S donors: Nitric oxide-dependent and independent mechanisms // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2016. - № 358. – P. 431-440.

91. Bucci M., Papapetropoulos A., Vellecco V. et al. Hydrogen sulfide is an endogenous inhibitor of phosphodiesterase activity // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2010. - 30(10):1998-2004. Doi: 10.1161/ATVBAHA.110.209783.

92. Whiteman M., Moore P.K. Hydrogen sulfide and the vasculature: a novel vasculoprotective entity and regulator of nitric oxide bioavailability? // *J Cell Mol Med.* – 2009. – Vol. 13, № 3. – P.488-507.

93. Yong Q.C., Hu L.F., Wang S. et al. Hydrogen sulfide interacts with nitric oxide in the heart: possible involvement of nitroxyl // *Cardiovasc Res.* – 2010. – № 88. – P. 482- 491.

94. Kimura H. Signaling Molecules: Hydrogen Sulfide and Polysulfide // Antioxidants & Redox signaling. – 2015.;22(5). Doi: 10.1089/ars.2014.5869.

95. Yamamoto T., Takano N., Ishiwata K. et al., Carbon monoxide stimulates global protein methylation via its inhibitory action on cystathionine beta-synthase // J Clin Biochem Nutr. – 2011. – Vol. 48, № 1. – P. 96-100.

96. Truss N.J., Warner T.D. Gasotransmitters and platelets // Pharmacology & Therapeutics - 2011. – Vol. 132, № 2. – P. 196-203.

97. Szabo C., Papapetropoulos A. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CII: Pharmacological Modulation of H₂S Levels: H₂S Donors and H₂S Biosynthesis Inhibitors // Pharmacol Rev - 2017. - № 69. – P. 497–564.

Сведения об авторах

Акулич Николай Васильевич – УЗ «Национальная антидопинговая лаборатория», Республика Беларусь, zinchuk@grsmu

Билецкая Елена Степановна – аспирант, ассистент кафедры нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Республика Беларусь, г. Гродно, biletskaya.e@inbox.ru

Засимович Владимир Николаевич – заведующий отделением сосудистой хирургии УЗ «Брестская областная клиническая больница», Республика Беларусь, Брест zasimovich.v@gmail.com

Зинчук Виктор Владимирович – докт. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, zinchuk@grsmu.by

Иоскевич Николай Николаевич – докт. мед. наук, профессор 1-й кафедры хирургических болезней «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно. inngrno@mail.ru

Ковальчук-Болбатун Татьяна Викторовна – аспирант, 2-я кафедра хирургических болезней, УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, 7881632@mail.ru

Михайлов Павел Валентинович – канд. биол. наук, доцент кафедры спортивных дисциплин ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», mrv.yag@yandex.ru

Муравьев Алексей Васильевич – докт. биол. наук, профессор кафедры медико-биологических основ спорта и теории физической культуры ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», alexei.47@mail.ru

Смотрин Сергей Михайлович – докт. мед. наук, профессор, 2-я кафедра хирургических болезней, УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, zinchuk@grsmu.by

Тихомирова Ирина Александровна – докт. биол. наук, профессор кафедры медицины, ФГБОУ ВО «ЯГПУ им. К.Д. Ушинского», i.tikhomirova@yspu.org

Information about the authors

Akulich Nikolay Vasilievich – Healthcare Institution "National Anti-Doping Laboratory", Republic of Belarus, zinchuk@grsmu

Biletskaya Elena Stepanovna – post-graduate student, assistant of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, biletskaya.e@inbox.ru

Ioskevich Nikolai Nikolaevich – Doctor of Medical Sciences, Professor of the 1st Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, inngrno@mail.ru

Kovalchuk-Bolbatun Tatyana Viktorovna – post-graduate student, 2nd Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, 7881632@mail.ru

Mikhailov Pavel Valentinovich – Associate Professor of the Department of Sports Disciplines, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, mpv.yar@yandex.ru

Muravyov Alexey Vasilyevich – Professor of the Department of medical and biological basis of sport and The Theory of Physical Culture, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky, alexei.47@mail.ru

Smotrin Sergey Mikhailovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, 2nd Department of Surgical Diseases, Grodno State Medical University, zinchuk@grsmu.by

Tikhomirova Irina Aleksandrovna – Professor of The Department of Medicine, Yaroslavl State Pedagogical University named after K. D. Ushinsky i.tikhomirova@yspu.org

Zasimovich Vladimir Nikolaevich – Head of the Vascular Surgery Department of the Brest Regional Clinical Hospital, Republic of Belarus, Brest, zasimovich.v@gmail.com

Zinchuk Victor Vladimirovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Grodno State Medical University, zinchuk@grsmu.by

Научное издание

**Роль газотрансмиттеров в механизмах
транспорта кислорода кровью в различных
условиях кислородного обеспечения**

Монография

Научные редакторы

зав. кафедрой нормальной физиологии Гродненского
государственного университета, Республика Беларусь

доктор медицинских наук, профессор

Виктор Владимирович Зинчук

профессор кафедры медико-биологических основ спорта
Ярославского государственного педагогического университета

им. К.Д. Ушинского

доктор биологических наук, профессор

Алексей Васильевич Муравьев

Подписано в печать 12.05.2022. Формат 60х90/16.

Усл. печ. л. 12,875; уч. изд. л. 8,34.

Тираж 50 экз. Заказ № 2681.

Отпечатано в ООО «Канцлер»

150008, г. Ярославль, ул. Клубная 4-49.

Тел.: (4852) 58-76-33, 58-76-37.